Tom II. 1922. Zeszyt II.

LIBRARY

PRZEGLĄD EPIDEMJOLOGICZNY

THE ROCKEFELLER INSTITUTE
LIBRARY
NOV 23 1922
FOR MEDICAL RESEARCH

WYDAWANY PRZEZ

PAŃSTWOWY ZAKŁAD EPIDEMJOLOGICZNY

MINISTERSTWA ZDROWIA PUBLICZNEGO.

REDAKCJA I ADMINISTRACJA: CHOCIMSKA 2b. (daw. Langnerowska). Tel. 243-84.

PRENUMERATA ZA TOM 50 ARKUSZ. 7000 Mk. ROCZNIE.
CENA POJEDYŃCZEGO ZESZYTU 150 Mk. ZA ARKUSZ DRUKU

WARSZAWA.

REGULAMIN

ogłaszania prac w „Przeglądzie Epidemjologicznym"

1) „Przegląd Epidemjologiczny" zamieszcza prace oryginalne oraz streszczenia zbiorowe i referaty z dziedziny epidemjologji, bakterjologji serologji i działów pokrewnych.

2) Prace należy nadsyłać pod adresem Państwowego Zakładu Epidemjologicznego:

Warszawa Chocimska 2b (dawn. Langnerowska).

3) „Przegląd Epidemjologiczny" pojawiać się będzie w terminach dowolnych w objętości 50 arkuszy druku rocznie.

4) Prace, przyjęte do druku, umieszczane będą w porządku napływania rękopisów, przyczem kolejność prac w poszczególnych numerach określa redakcja; dla prac nadchodzących pocztą za datę otrzymania uważaną będzie data wysłania.

5) Redakcja prosi o nadsyłanie prac pisanych po jednej stronie na maszynie lub bardzo czytelnie, z pozostawieniem marginesu i wolnego miejsca przed tytułem dla notat redakcyjnych.

6) Autorowie proszeni są o dołączanie do swych prac streszczeń w jednym z języków obcych (angielskim, francuskim, niemieckim).

7) Nadsyłane prace powinny być starannie wykończone, aby uniknąć znacznych zmian w korektach (znaczne zmiany poczynione w korektach opłacane będą na koszt autora).

8) Tablice barwne i fotografje mogą być wykonywane w wyjątkowych tylko przypadkach z funduszów wydawnictwa.

9) Redakcja prosi o dokładne podawanie bibliografji przy końcu pracy pod tytułem „Piśmiennictwo". Dane bibliograficzne zawierać winny nazwisko i inicjały autora, tytuł dzieła lub pisma oraz dla artykułów rok, tom i stronnicę, zaś dla dzieł ilość stronnic, nazwisko wydawcy, miejsce wydania i rok wydania (n. p. Nicolle Ch. Typhus exanthématique Bull. Pasteur 1920, XVIII, 49) — albo „Kruse W. Allgemeine Mikrobiologie" 1184 str. F. Vogel. Lipsk 1910 r. Inaczej podana bibliografja nie będzie uwzględniana.

10) Celem uniknięcia zwłoki korekty będą przesyłane autorom pozamiejscowym tylko na specjalne żądanie, lub o ile redakcja uzna to za konieczne.

11) Autorowie otrzymują po 25 odbitek swych prac na koszt wydawnictwa.

PRZEGLĄD EPIDEMJOLOGICZNY

TOM II. 1922. ZESZYT 2.

Z Państwowego Zakładu Badania Surowic
(Dyrektor Dr. L. Hirszfeld).

O własnościach zlepnych szczepów durowych, rzekomodurowych i szczepów odmieńca.

Podali

LUDWIK HIRSZFELD i JULJA SEYDEL.

W Zesz. 6. Tomu I. „Przeglądu Epidemjologicznego" opisaliśmy szereg doświadczeń nad własnościami aglutynacyjnemi szczepów *para B*, *para C* i *Aertryke*. Uwzględniliśmy w naszej pracy nietylko pokrewieństwo, wyrażające się w istnieniu współaglutynin, ale i formę, w jakiej wypadają zaglutynowane bakterje rozmaitych typów, jako też ciepłostałość substancyj aglutynacyjnych. Wprowadzenie tych sprawdzianów wydało się nam niezbędnem ze względu na prace *Weila i Felixa*, które dowiodły istnienia rozmaitych form aglutynacji u szczepów *Para β* (*Para C.*) *i Para B*. Autorzy obserwowali tę różnicę po raz pierwszy śród biologicznych odmian odmieńca: rozróżniają oni formy H (*mit Hauch*), zasnuwające powierzchnię agaru, aglutynujące się z surowicą odpornościową w postaci lekko opadającego obłoczka, dającego się łatwo rozbić, i formy O (*ohne Hauch*), rosnące w postaci oddzielnych kolonij, aglutynujące się w postaci spoistych grudek. Należy dla dokładności historycznej podkreślić, że spostrzeżenia nad rozmaitemi formami aglutynacji zrobił po raz pierwszy *Porges* jeszcze w 1905 r., w badaniach nad aglutynacją gotowanych prątków durowych. Zasługą *Weila i Felixa* jest rozszerzenie tego spostrzeżenia na różne gatunki bakteryj. *Weil i Felix* zauważyli, że odmieniec typu H po nagrzaniu aglutynuje się w formie grudek, podobnie jak szczepy typu O nienagrzane. Nasunęło to przypuszczenie, że forma aglutynacji zależna jest od istnienia odrębnych chwytników o rozmaitej ciepłostałości. Zdaniem autorów forma obłoczkowata, jaką dają prątki durowe oraz odmieniec $X_{19}H$ polega na istnieniu ciepłochwiejnego chwytnika „H", aglutynacja zaś grudkowata, jaką dają X_{19} O i prątki gotowane polega na istnieniu specjalnego chwytnika

O. Jakie jest podłoże fizykalne tych dwóch aglutynacyj, autorzy nie badali. Forma aglutynatu, zdaniem ich, zależy przedewszystkiem od istnienia tych dwóch rozmaitych chwytników. Pogląd swój opierają na następujących spostrzeżeniach. Surowica, wytworzona przez zastrzyk bakteryj żywych, posiadających chwytniki H i O, aglutynuje w formie mieszanej (obłoczkowato, dzięki obecności H i grudkowato dzięki O). Z tego wnoszą autorzy, że w surowicy tej czynne są dwa zlepniki H i O i przypuszczenie to potwierdzają badaniami absorbcyjnemi. Jeżeli bowiem dodamy bakteryj gotowanych, zawierających jedynie chwytnik O, do surowicy, wywołanej przez bakterje żywe, posiadającej zatem aglutyniny H i O, to związany zostanie zlepnik O i w surowicy pozostanie jedynie zlepnik H, który aglutynować będzie bakterje żywe H nie w formie mieszanej, a czysto obłoczkowatej, albowiem grudkowaty chwytnik O nie będzie mógł działać wobec braku w surowicy odpowiedniego przeciwciała anti-O.

Podług *Weila* i *Felixa* otrzymamy odmienne rezultaty z surowicami, wywołanemi przez zastrzyk bakteryj gotowanych, te zawierają bowiem jedynie chwytnik O, wywołują zatem surowice jedynie z anti-O. Surowica taka różni się podług autorów od surowicy pierwszego typu tem: 1) że daje nawet z bakterjami żywemi aglutynację grudkowatą i 2) że surowice takie, absorbowane bakterjami gotowanemi, nie mogą aglutynować szczepów żywych, gdyż nie posiadają one, jak surowice pierwszego typu, zlepników H.

Twierdzenia te, poparte całym szeregiem subtelnych doświadczeń, doprowadziły autorów do niezmiernie ciekawych wniosków biologicznych. Surowica chorych będzie posiadała inne własności aglutynacyjne, będzie aglutynowała odmiany biologiczne H lub O w zależności od szczepów, krążących we krwi; forma tej aglutynacji będzie grudkowata lub obłoczkowata i t. d. W badaniach bakterjologicznych musimy również uwzględnić biologiczne różnice między formami O i H. W ustroju zakażonym durem plamistym mogą, zdaniem *Weila* i *Felixa*, występować zmiany; wtedy szczepy, posiadające chwytniki H i O przemieniają się samoistnie w O.

Przemiana formy H w O odbywać się może prócz tego samorzutnie, jak to stwierdzili liczni autorzy (*Braun* i *Schäffer*, *Weltmann* i *Seufferheld*, *Seifert* i inni) pod wpływem różnych warunków dysgenetycznych, jako to: hodowli na agarze wysuszonym, dodatku karbolu i t. d. Niektórzy badacze (*Weil* i *Felix*, *Braun* i *Salomon*, *Sachs*, *Braun*, *Büchner* i *Zollner*), uważają, że chwytniki O lub H stanowią znamiona zupełnie odrębnego powinowactwa między szczepami; tak np. X_{19} i X_2 posiadają wspólne chwytniki H i odrębne O. Surowica, wywołana formą H jednego szczepu, aglutynuje formę H drugiego, tymczasem gdy użycie odmian O wykazuje odrębność serologiczną tych typów. *Weil-Felix* i *Mitzenmacher* przeprowadzili podobną analizę ze szczepami tyfusu, *para A*, *B* i *Gärtnera*. Nie można, co prawda, w grupie tyfusowej odróżnić typu H od O, gdyż bakterje te nie zasnuwają powierzchni agaru (mit Hauch). Badanie szczepów gotowanych wykazało zdaniem autorów, że posiadają one również dwojakiego rodzaju chwytniki, podług szematu omówionego powyżej. Swoistym jednak jest tu chwytnik H, tymczasem gdy chwytnik O wykazuje pokrewieństwo między typami *Gärtnera* i tyfusu.

Reasumując te badania widzimy, że według *Weil-Felixa* bakterje mogą posiadać dwa chwytniki, ciepłostały i ciepłochwiejny i że przeciwko każdemu z nich można wywołać odrębne przeciwciała. Otoż jeżeli pominiemy chwilowo subtelną analizę pokrewieństwa na mocy jednego tylko chwytnika a zwrócimy uwagę na jednoczesną obecność dwóch chwytników, to okaże się, że teorja ta nie jest nową, a była dyskutowana już przed 19 laty. *Joos* w r. 1903 twierdził, że bakterje tyfusu posiadają dwie substancje aglutynogenne i nawet sądził, że przeciwciała, powstałe przeciwko nim, posiadają odrębną ciepłostałość. Wyników tych nie potwierdziły jednak badania *Krausa* i *Joachima*, a uzyskały one inną interpretację dzięki głębokim pracom *Porgesa*. Badania *Porgesa* posuwały się w dwóch kierunkach. Przedewszystkiem kwestja ciepłostałości została ujęta w sposób odmienny. Podczas gdy *Joos* twierdził, że już w temp. 65° *substancja* zlepna zostaje zniszczona, *Porges* wykazał, że bakterje tyfusu przechodzą jedynie przez fazę, gdzie zawieszalność bakteryj jest zwiększana przez wytworzenie lepkiej, śluzowatej masy. Bakterje nagrzane do 80° związane są ze sobą w formie śluzowatego splotu. Jeżeli jednak gotujemy te bakterje w temp. 100°, sploty zanikają, bakterje uzyskują swą dawną zawieszalność i aglutynują się.

Opierając się na pracach *Bechholda*, *Neissera* i *Friedemanna*, *Porges* objaśnia zawieszalność bakteryj obecnością ciał białkowych, mianowicie nukleoproteidów. Wskutek nagrzania nukleoproteidy przechodzą w nukleiny, mające formę śluzowatą i nie dają się w ten sposób oddzielić od otaczającego płynu. Dopiero podczas dalszego nagrzewania nukleiny podlegają hydrolizie. *Porges* nie uznaje zatem istnienia ciepłochwiejnych chwytników. Przypuszczenie co do ich istnienia polegało na nieuwzględnianiu przez *Joosa* środkowej sfery zahamowania, wytwarzającej się nieraz już w 65°. Pod wpływem *Paltaufa*, *Porges* skłonny jest jednak uznać serologiczną swoistość bakteryj gotowanych. *Obermeyer* i *Pick* stwierdzili, że białko nagrzane wytwarza inne precypityny, niż białko świeże: denaturacja białka jest związana ze zmianą swoistości serologicznej. Podobnie sądził *Porges*, że bakterje zmieniają przez gotowanie swoją swoistość serologiczną, a zatem odrzuca on preegzystencję dwóch grup, jak to czynią *Joos*, a później *Weil-Felix*. *Porges* sądzi, że pod wpływem gotowania powstają *nowe* ugrupowania serologiczne, stwierdził bowiem, że surowica, wywołana przez bakterje żywe, aglutynuje bakterje żywe kilkadziesiąt razy mocniej, niż bakterje gotowane, tymczasem gdy różnice te nie są takie wybitne w razie użycia surowic, wywołanych zastrzykiem bakteryj gotowanych. Protokułów *Porgesa* nie można jednak interpretować w sposób tak prosty. Surowice, wywołane zastrzykiem bakteryj żywych, są bowiem o wiele mocniejsze, i dlatego nasuwa się podejrzenie, że różnice w mianie dla bakteryj gotowanych i żywych polegają na pewnych czynnikach wtórnych, np. na tem, że bakterje zabite nie mogą być aglutynowane przez surowice zbyt rozcieńczone, nawet jeśli posiadają wysokie miano i t. p. Podejrzenie takie nasuwa się tem silniej, że badania absorbcyjne żadnych różnic między chwytnikami bakteryj żywych a gotowanych nie wykazały. Pod tym względem *Porges* potwierdza spostrzeżenia *Eisenberga* i *Volka*. Do tego samego wniosku doszedł *Dreier*

(który niezależnie, a jednocześnie z *Porgesem*, wykazał ciepłostałość substancji zlepnej), *Hirszfeld* i inni.

Widzimy zatem, że zachodzą różnice między dawnemi pracami, hipotezą *Porgesa* i twierdzeniami *Weila* i *Felixa*. Prace *Weila* i *Felixa* spowodowały już powstanie obszernej literatury; pod ich też wpływem zaczyna się odbywać rewizja ustalonych dotąd pojęć serologicznych o pokrewieństwie szczepów, o mozaice antygenowej i t. d. Badania te nie zawsze jednak stoją na należnej wysokości. Ustaliło się bowiem przekonanie, że aglutynacja grudkowata m u s i polegać na obecności chwytnika odrębnego od tego, który powoduje aglutynację obłoczkowatą. Autorzy, widząc aglutynację grudkowatą ze szczepami gotowanemi, wysnuwają wniosek, że chwytnik „O" m u s i a ł istnieć poprzednio w bakterjach świeżych. Wniosek ten nie zawsze można uzgodnić z protokułami autorów, zaś nasze własne badania wykazały niesłuszność tego poglądu.

W pracy o *Para C* w t. I z. 6 *„Przeglądu Ep."* mogliśmy potwierdzić, że szczepy B i C aglutynują się odmiennie. Obecna praca dotyczy istoty aglutynacji obłoczkowatej i grudkowatej. W tym celu wykonaliśmy badania, mające wykazać:

1. Jaka jest ciepłostałość szczepów, dających aglutynację obłoczkowatą i grudkowatą.
2. Jakie są antygenne i absorbcyjne własności szczepów gotowanych i niegotowanych.
3. Jakie jest pokrewieństwo serologiczne między gotowanymi i świeżemi szczepami X_{19}, H i O.
4. Jak trzeba zapatrywać się na odczyn *Weila* i *Felixa* z punktu widzenia istnienia tych dwóch odmian odmieńca.
5. Jakie jest fizykalne podłoże aglutynacji obłoczkowatej i grudkowatej.

Wpływ ogrzewania na zdolności aglutynacyjne bakteryj.

Badania *Porgesa* wykazały, że bakterje tyfusu, nagrzane do 80°, nie aglutynują się. *Porges* objaśnia to wytwarzaniem się śluzowatych mas, nasiąkniętych wodą, które z trudnością można oddzielić od wody i strącić. Chemiczne podłoże tego zjawiska stanowi hydroliza nukleoproteidów i wytworzenie się nukleinów. Podczas dalszej hydrolizy, pod wpływem gotowania w wodzie lub dodania kwasów, aglutynacyjność wraca. Bakterje gotowane różnią się zatem od niegotowanych przedewszystkiem stopniem denaturacji białka. Ponieważ forma aglutynacji szczepów gotowanych, a zatem z daleko posuniętą denaturacją białka, jest grudkowata, nasuwało się przypuszczenie, że s t a n f i z y k a l n y szczepów O będzie po części zbliżony do gotowanych szczepów H i że szczepy typu O nie będą posiadały tej środkowej sfery zahamowania, tak charakterystycznej dla licznych bakteryj. W tym celu ogrzewaliśmy szereg bakteryj do 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 100°. Podajemy wyciąg z licznych protokułów, nadmieniając, że badaliśmy rozmaite szczepy jednego i tego samego gatunku.

PROTOKUŁ Nr. 1.

Technika: 24-g. hodowle agarowe zmyto 15 cm³. fizjol. rozcz. NaCl. Zawiesinę ogrzewano w ciągu ½ godz. Aglutynację odczytano po 24 godz., trzymając statywy w temperaturze pokojowej. Do aglutynacji odmieńca użyto surowicy chorego na dur wysypkowy [1]).

Bakterje	Ogrzane w temp.	Rozcieńczenie surowicy 1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200
Tyfus Konrad	Kontrola	+++ O	+++ O	+++ O	++ O	++ O
	50°	+++ O	+++ O	+++ O	++ O	++ O
	60°	+++ OM	+++ OM	+++ OM	++ OM	+ OM
	70°	sploty	sploty	sploty		
	80°	sploty	sploty	sploty		
	90°	—	—			
	100°	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+ gr	
Para A Tarko	Kontrola	+++ M	+++ M	+++ M	++ M	+ M
	50°	+++ M	+++ M	+++ M	++ M	± M
	60°	+++ M	+++ M	++ M	+ M	—
	70°	sploty	sploty	sploty	sploty	
	80°	sploty	sploty	sploty		
	90°	sploty	—			
	100°	+++ gr	++ gr	+ gr		
Para B Fuks	Kontrola	+++ O	+++ O	+++ O	++ O	+ O
	50°	+++ O	+++ O	++ O	++ O	+ O
	60°	+++ O	+++ O	++ O	O	O
	70°	sploty	sploty	sploty		
	80°	sploty	sploty			
	90°	+ gr	+ gr	—		
	100°	+ gr	+ gr			

[1]) Uwaga: O — oznacza aglutynację obłoczkowatą („grobflockig“ autorów niemieckich); gr. — aglutynację grudkowatą („kleinflockig“); O M — obłoczkowato-mieszaną; M — mieszaną.

Bakterje	Ogrzane w temp.	Rozcieńczenie surowicy				
		1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200
Para C 5888	Kontrola	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+ gr
	50°	++ M	++ M	++ M	±	
	60°	+++ gr	++ gr	++ gr	±	
	70°	+++ gr	++ gr	++ gr	±	
	80°	—	—			
	90°	+++ gr	++ gr	++ gr	+ gr	±
	100°	+++ gr	++ gr	++ gr	+ gr	
Shiga Werda	Kontrola	+++ M	++ M	++ M	±	
	50°	+++ gr	++ gr	±		
	60°	+++ gr	++ gr	±		
	70°	—	—			
	80°	—	—			
	90°	++ gr	++ gr	+ gr		
	100°	++ gr	+++ gr	++	±	
Flexner 1041	Kontrola	+++ gr	+++ gr	+++ gr	+++ gr	++ gr
	50°	+++ gr	+++ gr	++ gr	++ gr	++ gr
	60°	+++ gr	+++ gr	++ gr	++ gr	—
	70°	+++ M	+ M	±		
	80°	+++ gr	++ gr	++ gr	+ gr	±
	90°	+++ gr	++ gr	++ gr	+ gr	±
	100°	+++ gr	+++ gr	++ gr	—	

Bakterje	Ogrzane w temp.	Rozcieńczenie surowicy				
		1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200
Cholera II	Kontrola	+++ M	+++ M	++ M	++ M	±
	50°	+++ M	+++ M	++ M	++ M	±
	60°	+++ M	+++ M	++ M	++ M	±
	70°	+++ M	++ M	+ M	±	
	80°	+ M	+ M	−		
	90°	−	−			
	100°	++ gr	+ gr	±		
X19 O	Kontrola	+++ gr	+++ gr	+++ gr	++ gr	+
	50°	+++ gr	+++ gr	++ gr	+ gr	
	60°	+++ gr	+++ gr	++ gr	+ gr	
	70°	+++ gr	+++ gr	+ gr		
	80°	+++ gr	++ gr			
	90°	+++ gr	++ gr			
	100°	+++ gr	++ gr	+ gr		
X19 H	Kontrola	+++ O	+++ O	+++ O	++ O	+ O
	50°	−	−			
	60°	+++ gr.	+++ gr.	++ gr.	+	
	70°	+++ gr.	++ gr.	+ gr.		
	80°	+++ gr.	++ gr.	+ gr.		
	90°	+++ gr.	++ gr.	+ gr		
	100°	++ gr	++ gr			

Protokuł wykazuje, że szeroką sferę zahamowania z wytworzeniem śluzu posiadają głównie bakterje o aglutynacji obłoczkowatej. *Para C*, dające aglutynację mieszaną lub grudkowatą, wykazują dopiero po nagrzaniu do 80° zahamowanie. Typ zaś $X_{19}O$, badany z surowicą chorych, nie dał zupełnego zahamowania, tymczasem gdy dla $X_{19}H$ sfera zahamowania powstaje już w temp. 50° (co znane jest z prac *Csepai'ego*, *Baucha* i *Hamburgera*, *Brauna* i *Salomona*, *Braun-Sachsa*).

Nie chcemy jednak twierdzić ogólnie, że bakterje, aglutynujące grudkowato, nie wykazują wcale sfer zahamowania. Szczepy *Flexnera* i $X_{19}O$ wykazują również zahamowanie w temp. 70-80°, ale jedynie w słabszym stopniu.

O własnościach aglutynogennych szczepów gotowanych.

Jak wspomnieliśmy na wstępie, bakterje ogrzewane posiadają, podług *Weila-Felixa* i *Mitzenmachera*, jedynie chwytnik O, to znaczy, że przeciwciała, wywołane bakterjami ogrzanemi, aglutynują nawet bakterje nieogrzane w formie grudek. Własności aglutynogenne nie są jednak zmniejszone. Powoływaliśmy się już na dawniejsze prace *Porgesa*, wykazujące, że surowice, wywołane szczepami ogrzanemi, aglutynują szczepy ogrzane i nieogrzane w równym stopniu, tymczasem gdy surowice, skierowane przeciwko szczepom nieogrzanym, aglutynują bakterje nieogrzane mocniej (Patrz prot Nr. 2, str. 147).

Protokuł № 2 wykazuje, że: 1) Bakterje ogrzane są gorszym antygenem, zgodnię z tem, jak to przyjmowano w pracach dawnych. Miano aglutynacyjne w surowicach królików, uodpornionych szczepami nieogrzanemi, wynosi 1600 do 6400; uodpornionych szczepami ogrzanemi, waha się od 200—3200. Po odrzuceniu typów X_{19}, O i 5888, dających aglutynację grudkowatą, różnice te są jeszcze widoczniejsze. 2) Forma aglutynacji z daną surowicą nie zależy w tym stopniu od ogrzewania antygenu, jak to podają *Weil i Felix*. Tak np. surowica, wywołana zastrzykiem ogrzewanego szczepu $X_{19}H$ daje z bakterjami żywemi aglutynację obłoczkowatą. Surowica *Para B*, wywołana bakterjami gotowanemi, daje rzeczywiście z bakterjami żywemi aglutynację mieszaną, tymczasem gdy surowica, skierowana przeciwko bakterjom nieogrzanym, daje z żywemi aglutynację obłoczkowatą. Ale w innem doświadczeniu, np. wobec *Para* β 5, widzimy, że surowice, wywołane bakterjami niegotowanemi, dają aglutynację grudkowatą, zaś wywołane bakterjami ogrzewanemi, przeciwnie, aglutynację mieszaną. Zależności formy aglutynacyjnej od gotowania zastrzykniętego antygenu nie spostrzegliśmy i pod tym względem nie możemy potwierdzić zasadniczego twierdzenia *Weila i Felixa*.

PROTOKUŁ Nr. 2.

Technika: 24-godz. hodowle agarowe zmyto 15 cm^3 fizyol. Nacl. Zawiesinę nieogrzewaną zabijano przez dodanie fenolu. Zawiesinę ogrzewaną trzymano 1 godz. w 100^0. Zwierzęta szczepiono dożylnie po 0,2 cm^3, trzykrotnie lub pięciokrotnie, w przerwach sześciodniowych.

	Surowice odpornościowe, wywołane zawiesiną			
	Nieogrzewaną		Ogrzewaną	
	Aglutynacja z zawiesiną			
	Nieogrz.	Ogrzew.	Nieogrz.	Ogrzew.
Tyfus Hiura			400 M	100 Mgr
Para C 5888	3200 gr	3200 gr	3200 gr	1600 gr
Para C 775	3200 gr	1600 gr	1600 gr	400 gr
Para B 665	6400 O	—	800 M	100 gr
Para β 1 Wołyń	1600 gr	100 gr	200 gr	50 gr
Para β 5 Albanja	1600 gr	200 gr	400 M	100 gr
Proteus X_{19} O	3200 gr	800 gr	3200 gr	400 gr
Proteus X_{19} H	3200 O	800 gr	800 O	400 gr

Badania nad absorbcją surowic, wywołanych bakterjami nagrzanemi i nienagrzanemi.

Weil i Felix podają, że surowice odpornościowe, otrzymane przez zastrzyk prątków nieogrzanych, posiadają 2 rodzaje przeciwciał. Absorbcja prątkami ogrzanemi pozostawia jeszcze aglutyniny dla nieogrzanych, które aglutynują się prawie do wysokości miana. Jedyna różnica polega na tem, że mieszana forma aglutynacji, po usunięciu aglutynin, skierowanych przeciwko chwytnikom ciepłostałym, staje się bardziej obłoczkowatą. Surowice zaś, wywołane bakterjami ogrzanemi, posiadają tylko jeden rodzaj aglutynin i można je wyabsorbować zupełnie bakterjami ogrzanemi.

Badania absorbcyjne, zdaniem *Weila* i *Felixa*, dowodzą zatem zasadniczej różnicy między surowicami, wywołanemi prątkami żywemi lub gotowanemi.

W celu sprawdzenia tego faktu, przystąpiliśmy do bardzo licznych doświadczeń, protokuły których załączamy (Patrz prot. № 3, 4 i 5).

PROTOKUŁ Nr. 3.

Technika: 24-godz. hodowle z butelki Roux zmyto 10 cm. fizjol. NaCl. Do adsorbcji użyto 2,5 cm. tej zawiesiny z takąż ilością surowicy swoistej, w rozcieńczeniu 1/12,5. Adsorbowano 1 godz. w temp. pokojowej; po tym czasie wirowano 1/2 godz.

Surowice	Surowice nieabsorb.		Surowice absorbowane bakterjami			
			Nieogrzan.		Ogrzan.	
	aglutynują bakterje					
	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.
Ty Hiura ogrzew.	3200 O	1600 gr	—	—	1600 O	—
Para C 775 ogrzew.	3200 Mgr	800 gr	—	—	800 M	—
Para C 775 nieogrzew.	3200 Mgr	800 gr	200 M	—	1600 M	—
Para B 665 nieogrzew.	6400 O	800 gr	200 O	50 gr	3200 O	400 gr

Na pozór dane nasze potwierdzają wyniki, otrzymane przez *Weila-Felixa*. Rzeczywiście absorbcja, robiona z bakterjami gotowanemi, zabiera wszystkie aglutyniny dla bakteryj gotowanych, zostawiając znaczną część dla bakteryj żywych, tymczasem gdy absorbcja bakterjami żywemi wyczerpuje surowicę zupełnie. Bliższa jednak analiza ilościowa naszych protokułów wykazuje, że podobne tłomaczenie byłoby nieścisłe. Widzimy bowiem, że siła absorbcyjna bakteryj gotowanych, jak to jest rzeczą znaną z prac dawnych, jest znacznie zmniejszona. Gęsta zawiesina bakteryj ogrzanych zabiera z surowicy mniej więcej 1/2 — 3/4 przeciwciał, tak że surowica z bakterjami gotowanemi, których aglutynacyjność jest wielokrotnie słabsza, nie daje odczynu aglutynacyjnego w wyższych rozcieńczeniach surowic. Bakterje żywe są jeszcze aglutynowane, miano surowicy po absorbcji jest jednak stale mniejsze. Sądząc, że różnice między *Weilem* i *Felixem* a nami wynikają z własności szczepu, powtórzyliśmy badania z β 1 i β 5, przesłanemi nam przez *Weila*. Wynik naszych prób był ujemny (Protokuł Nr. 5).

PROTOKUŁ Nr. 4.

Technika: 24-godz. hodowle z but. Roux zmyto 10 cm^3 Nacl; surowicę rozcieńczano $^1/_{12.5}$.

Surowice	Surowice nieabsorbow.		Surowice absorbowane zawiesinami									
			Stężonemi ogrzewan.		Stężonemi nieogrz.		Nieogrz. w rozcieńcz. 1:20		Nieogrzan. w rozcieńcz. $^1/_{30}$		Nieogrzan. w rozcień. $^1/_{40}$	
	Aglutynacja bakterjami											
	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.
Para B Ermang ogrzewan.	12800 O	400 gr	3200 O	—	200 O	—	3200 O	50 Mgr	3200 O	100 Mgr	3200 O	100 Mgr
Para B 665 ogrzew.	200 O	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para B 665 nieogrzew.	6400 O	—	800 O	—	—	—	50 O	—	200 O	—	400 O	—
Para C 775 nieogrzew.	6400 M	100 gr	3200 M	—	—	—	3200 M	—	3 00 M	—	3200 M	50 gr

PROTOKUŁ Nr. 5.

Technika: 24-godz. hodowle z but. Roux zmyto 30 cm³ Nacl fizjol.; surowice rozcieńczano 1/25.

Surowice	Surowice nieabsorbow.		Surowice absorbowane bakterjami: Stężonemi ogrzewan.		Stężonemi nieogrz.		Nieogrz. w rozcieńcz. 1:20		Nieogrzan. w rozcieńcz. 1:30		Nieogrzan. w rozcieńcz. 1:40	
	Aglutynacja z bakterjami.											
	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.	Nieogrz.	Ogrz.
Para B 665 nieogrz.	3200 O	—	800 O	—	—	—	1600 O	—	1600 O	—	1600 O	—
Para B 665 ogrz.	200 O	—	50 O	—	—	—	—	—	—	—	50 O	—
Para β 1 nieogrz.	1600 M	200 gr.	50 M	—	—	—	400 M	50 gr	800 M	50 gr	1600 M	50 gr.
Para β 1 ogrz.	100 M	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Para β 5 nieogrz.	800 gr	400 gr.	100 gr	—	—	—	400 Mgr	200 Mgr	400 Mgr	200 Mgr	800 Mgr	200 gr
Para β 5 ogrz.	200 M	50 gr	—	—	—	—	100 gr	—	100 gr	—	100 gr	—
Para C 775 nieogrz.	6400 M	100 gr	1600 M	—	50 M	—	1600 M	50 Mgr	3200 M	100 Mgr	3200 M	100 Mgr
Para C 775 ogrz.	800 Mgr	—	400 M	—	—	—	200 M	—	200 M	—	200 M	—

Z protokułów Nr. 3, 4 i 5 wypływa, że: a) Surowice, wywołane zarówno bakterjami gotowanemi jak niegotowanemi, aglutynują bakterje żywe w sposób jednakowy.

b) Szczepy gotowane wiążą mniej niż żywe. Siła wiązalna szczepów gotowanych jest mniej więcej 20 do 30 razy słabsza, niż szczepów żywych. Używając do absorbcji stosownie rozcieńczonych szczepów żywych, uzyskujemy takie same wyniki absorbcyjne, jak przez użycie gotowanych zawiesin stężonych.

c) Nie znaleźliśmy różnic między surowicami, wywołanemi przez zastrzyk bakteryj gotowanych i niegotowanych pod względem ich własności wiązalnych. Forma aglutynacji z bakterjami żywemi, po absorbcji z bakterjami gotowanemi, nie zmienia się.

Wobec tych zupełnie sprzecznych wyników naszych badań w zestawieniu z badaniami *Weila* i *Felixa* nad prątkami durowemi i rzekomodurowemi, zbadaliśmy zachowanie się odmieńca X_{19} H i O. Surowica odpornościowa przeciwko szczepom O aglutynuje, podług *Weila* i *Felixa*, zarówno szczep O, jak i szczep H; szczep H jedynie w formie grudkowatej. Badania nasze, przeprowadzone na szczepach oryginalnych *Weila* i *Felixa*, dały odmienne wyniki.

PROTOKUŁ Nr. 6.

Surowica, wywołana przez X_{19} O nieogrz., aglutynuje.

	X_{19}				X_2			
	O niegorz	O ogrz.	H nieogrz.	H ogrz.	O nieogrz.	O ogrz.	H nieogrz.	H ogrz.
1 : 100	+++ gr	+++ gr	—	—	—	—	—	—
1 : 200	+++ gr	+++ gr	—	—	—	—	—	—
1 : 400	+++ gr	++ gr	—	—	—	—	—	—
1 : 800	+++ gr	—	—	—	—	—	—	—
1 : 1600	+++ gr	—						
1 : 3200	++ gr							
1 : 6400	+ gr							

Surowica, wywołana przez zastrzyk X_{19} O ogrzew., aglutynuje

	X_{19}				X_2			
	O nieogrz.	O ogrz.	H nieogrz.	H ogrz.	O nieogrz.	O ogrz.	H nieogrz.	H ogrz.
1 : 100	+++ gr	+++ gr	—	—	—	—	—	—
1 : 200	+++ gr	++ gr	—	—	—	—	—	—
1 : 400	+++ gr	—	—	—	—	—	—	—
1 : 800	++ gr							
1 : 1600	++ gr							
1 : 3200	±							
1 : 6400								

Surowica, wywołana przez zastrzyk X_{19} H nieogrz., aglutynuje

	X_{19}				X_2			
	O nieogrz.	O ogrz.	H nieogrz	H ogrz.	O nieogrz.	O ogrz.	H nieogrz.	H ogrz.
1 : 100	+++ gr	+++ gr	+++ O	++ gr	++ gr	+++ gr	+++ O	++ gr
1 : 200	+++ gr	++ gr	+++ O	++ gr	+ gr	++ gr	+++ O	++ gr
1 : 400	+++ gr	±	+++ O	++ gr	—	±	++ O	+ gr
1 : 800	++ gr	—	++ O	—			++ O	
1 : 1600	±		++ O				±	
1 : 3200			±					
1 : 6400								

Surowica, wywołana przez zastrzyk X_{19} H ogrz., aglutynuje

	X_{19}				X_2			
	O nieogrz.	O ogrz.	H nieogrz.	H ogrz.	O nieogrz.	O ogrz.	H nieogrz.	H ogrz.
1 : 100	+++ gr	±	+++ O	+++ gr	+ gr	+ gr	+++ O	+++ gr
1 : 200	+++ gr	—	+++ O	+++ gr	±	±	+++ O	±
1 : 400	+ gr		++ O	±			±	
1 : 800	±		+ O					
1 : 1600								
1 : 3200								
1 : 6400								

Protokuł wykazuje zatem, że szczep H wywołuje przeciwciała, skierowane przeciwko H i O, tymczasem gdy surowica *anti-O* jest swoista i zlepia jedynie szczep O. Badania absorbcyjne zestawione są w protokule Nr. 7 (Patrz str. 154 i 155).

Z protokułu tego wypływa, że surowica, wywołana szczepem H, posiada odrębne przeciwciała dla H i dla O. Ilość antygenu O w szczepach H wystarcza co prawda aby wywołać przeciwciała dla O, nie jest jednak wystarczająca, by powodować aglutynację szczepu H przez surowicę *anti-O*, jak to podają *Weil* i *Felix*. Ponieważ nie możemy przypuścić istnienia błędu w tak zasadniczych doświadczeniach u *W.-F.*, wnioskujemy, że ilość antygenu O w szczepach H jest różna, w zależności od czasu i warunków hodowlanych i że *Weil* i *Felix* operowali hodowlami H, posiadającemi daleko więcej antygenu O, niż nasze szczepy.

Weil-Felix twierdzą, że surowica chorych na dur plamisty zlepia szczepy H grudkowato, w przeciwieństwie do surowic królików uodpornionych, że zatem w ustroju chorych na dur plamisty krąży odmiana odmieńca O. Protokuł Nr. 8, przedstawiający zestawienie z 39 badań, wykazuje, że dane *Weil-Felixa* nie są słuszne.

PROT

Technika: 24-godz. hodowle ogrzane z butel. Roux zmyto 30

		Absorbowana									Surow. nieabsorbow		
		zawiesiną X_{19} H nieogrz.			zawiesiną H_{19} H ogrzew.			zawiesiną X_{19} O nieogrz.					
		Aglutynuje											
		H nieog.	H ogrz.	O nieog.	H nieog.	H ogrz.	O nieog.	H nieog	H ogrz.	O nieog.	H ogrz.	H ogrz.	ni
Surowica przeciwko X_{19} O nieogrz.	1:200	—	—	+++ gr	—	—	+++ gr	—	—	—	—	—	+
	1:400	—	—	+++ gr	—	—	+++ gr	—		—	—		+
	1:800			+++ gr			+++ gr						+
	1:1600			++ gr			++ gr						+
	1:3200			+ gr			+ gr						
Surowica przeciwko X_{19} O ogrzewan.	1:200	—	—	+++ gr	—	—	+++ gr	—	—	—	—	—	+
	1:400	—	—	+++ gr	—	—	+++ gr	—	—	—	—	—	+
	1:800			++ gr			++ gr			—			+
	1:1600			+ gr			+ gr			—			
	1:3200												

KUŁ Nr. 7.

fizyol. rozczyn NaCl. Surowicę odpornościową rozcieńczono 1/50.

	Absorbowana									Surow. nieadsorbow.		
	zawiesiną X19 H nieogrz.			zawiesiną X19 H ogrzew.			zawiesiną X19 O nieogrz.					
	Aglutynuje											
	H nieog.	H ogrz.	O nieog.	H nieog.	H ogrz.	O nieog.	H nieog.	H ogrz.	O nieog	H nieog	H ogrz.	O nieog.
1:200	—	—	—	+++ O	—	++ gr	+++ O	—	—	+++ O	++ gr	+++ gr
1:400	—	—	—	++ O	—	+ gr	++ O	—	—	+++ O	+ gr	+++ gr
1:800				++ O		—	++ O	—	—	+++ O	—	++ gr
1:1600				+ O			+ O		—	++ O		±
1:3200				±			—		—	+ O		
1:200	—	—	—	++ O	—	—	++ O	—	—	++ O	+ gr	+++ gr
1:400	—	—	—	±	—	—	±	—	—	++ O	—	++ gr
1:800										±		±
1:1600												
1:3200												

Surowice przeciwko X19 H nieogrz.

Surowice przeciwko X19 H ogrzewan.

PROTOKUŁ Nr. 8.

Odczyn *Weil-Felix'a* z surowicami chorych na dur plamisty

№№	X_{19} O nieog.	X_{19} O ogrz.	X_{19} H nieog.	X_{19} H ogrz.	№№	X_{19} O nieog.	X_{19} O ogrz.	X_{19} H nieog	X_{19} H ogrz.
470	± 3200 gr		++ 3200 O		60	± 800 gr		± 400 O	
471	+++ 3200 gr		+ 3200 O		61	+ 1600 gr		1600 O	
783	+ 12800 gr	± 1600 gr	+ 6400 O	± 1600 gr	62	+ 200 M		+ 200 O	
794	± 6400 gr	+ 800 gr	± 1600 O	+ 800 gr	M3	++ 6400 gr		+ 6400 O	
1242	+ 800 gr	+ 200 M	+ 400 O	+ 400 gr	384	± 800 gr		± 200 O	
1243	+ 800 gr	—	+ 200 O	+ 800 gr	M4	+++ 12800 gr		± 6400 O	
1247	+ 1160 gr	± 400 gr	++ 400 O	—	1	+ 6400 gr		± 6400 O	
4888	++ 3200 gr M	++ 800 M gr	—	—	2	± 12800 gr		+ 12800 O	
4904	++ 3200 gr M	++ 800 M gr	—	—	3	+ 6400 gr		+ 3200 O	
4889	+ 400 M	—	—	—	4	+ 6400 gr		+ 3200 O	
4946	++ 800 M	++ 200 gr M	+ 200 M	± 800 Mgr	5	± 6400 gr		± 3200 O	
4998	++ 1600 M	+ 800 M	± 800 O	—	6	+ 6440 gr		+ 1600 O	
5004	± 1600 M	+ 400 M	—	—	7	+ 800 gr		++ 400 O	
5038	++ 1600 M	+ 400 M	—	—	R.	+ 1600 gr		+ 400 O	
M1	± 3200 gr		+ 3200 O		5644	± 800 gr		400 O	
M2	+ 3200 gr		+ 3200 O		5645	++ 3200 gr		+ 3200 O	
56	± 3200 gr		± 1600 O		5646	++ 1600 gr		± 1600 M	
37	± 3200 gr		+ 3200 O		5647	+ 400 gr		± 200 O	
58	+ 6400 gr		++ 1600 O		800	+ 3200 gr		± 3200 O	
59	± 6400 gr M		± 1600 O						

Z surowicami chorych otrzymaliśmy: ze szczepem H 32 razy aglutynację obłoczkowatą i 2 razy mieszaną, ze szczepem O 30 razy grudkowatą, 5 razy mieszaną i 3 razy grudkowato-mieszaną. Jeżeli używamy dostatecznie czystej hodowli, nie widzimy zatem aglutynacji grudkowatej szczepu H.

Aglutynacja z surowicami chorych nie różni się więc od aglutynacji z surowicami odpornościowemi. W kwestji tak zasadniczej, dotyczącej antygenu X_{19} w tyfusie plamistym, spostrzeżenia *Weil-Felix'a*, zrobione w r. 1917 i 1918, nie mogą być rozciągnięte na epidemje tyfusu plamistego z innych okresów.

Protokuł Nr. 7 wykazał, że szczepy O absorbują aglutyniny *anti-O* z surowicy, wywołanej zastrzykami X_{19} H, zostawiają w niej jednak aglutyniny *anti-H*. Z surowicy odpornościowej, wywołanej przez X_{19} H, przeciwciała dla H i O można zatem wyodrębnić zapomocą swoistej absorbcji, jak to podali *Weil-Felix*. Przedsięwzieliśmy podobne badania z surowicami chorych na tyfus plamisty (Patrz prot. Nr. 9).

Protokuł wykazuje, że surowice chorych na tyfus plamisty, absorbowane ze szczepem O, zarówno jak i z H, nie zawierają żadnych aglutynin, że zatem w surowicach odrębnych zlepników dla O stwierdzić nie można. Spostrzegamy przytem zjawisko, które zasadniczo przeczy pojęciu antygenu w pojęciu *Weil-Felixa*. Skoro szczepy H absorbują przeciwciała *anti-O*, to posiadają widocznie chwytniki O. Pomimo obecności tego chwytnika i skierowanych przeciwko niemu aglutynin, aglutynacja szczepów H jest obłoczkowata, a zatem istnienie chwytnika O niekoniecznie powodować musi aglutynację grudkowatą.

Widzieliśmy, że przeciwciała *anti-O* i *anti-H* można było w surowicy odpornościowej oddzielić, tymczasem, w zbadanych przypadkach, w surowicach chorych na tyfus plamisty, przeciwciała te są z sobą związane. Zjawisko to przypomina spostrzeżenia amerykańskich autorów nad meningokokami W surowicach wieloważnych, wywołanych wieloma szczepami meningokoków, można drogą swoistej absorbcji wyodrębnić i wykazać rozmaite przeciwciała, aglutynujące tylko poszczególne grupy meningokoków. Surowica, wywołana zastrzykiem niewielu zaledwie szczepów meningokokowych, posiada jak gdyby przeciwciała związane z sobą i absorbcja jednym szczepem wyczerpuje zwykle surowicę. Moglibyśmy podobnie przypuścić, że chwytniki H i O u chorych na tyfus plamisty są złączone w jednym antygenie, tymczasem gdy w hodowli typy te rozszczepiają się tak, że królik, uodporniony szczepem H, otrzymuje jednocześnie dwa niezależne od siebie antygeny i daje wobec tego częściowo odrębne przeciwciała.

Jeśli analogję tę można zastosować do szczepów X_{19}, tłomaczyłaby ona fakt, że aglutyniny H i O można wyodrębnić u królików, tymczasem gdy w surowicach chorych na tyfus plamisty, podobnego wypadku nie mogliśmy stwierdzić.

Ogrzewane szczepy H, pomimo że z surowicami zlepiają się zawsze grudkowato, nie wykazywały w żadnym przypadku własności serologicznych O, t. zn. nie wywoływały przeciwciał anti-O i nie absorbowały nigdy zlepników O.

PROTOKUŁ Nr. 9.

Absorbcja z surow. chorych na dur plamisty.

	Miano zlepne dla X_{19} O	Miano zlepne dla X_{19} H	Absorbcja z zawiesiną X_{19} O		Adsorbcja z zawiesiną X_{19} H	
			Aglutynacja z			
			X_{19} O	X_{19} H	X_{19} O	X_{19} H
R.	200 gr	100 O	—	—	—	—
5644	± 800 gr	+ 400 O	—	—	—	—
5545	++ 3200 gr	+ 3200 O	—	—	—	—
5546	+ 1600 gr	± 1600 M	—	—	—	—
5647	+ 400 gr	± 200 O	—	—	—	—
55	± 3200 gr	+ 1600 O	—	—	—	—
60	± 800 gr	± 400 O	—	—	—	—
800	+ 3200 gr	± 3200 gr	—	± 200 O	± 100 gr	—
M2	+ 3200 gr	± 3200 O	—	—	—	—
M3	++ 6400 gr	± 6400 O	± 100 gr	± 100 O	± 400 gr	+ 100 O
2	++ 6400 gr	+ 3200 O	—	—	—	—
3	+ 6400 gr	+ 3200 O	—	—	—	—
7	+ 800 gr	++ 400 O	—	—	—	—

Protokuł Nr. 6 wykazuje, że ogrzewane H X_{19} wywołują przeciwciała zarówno dla O, jak i dla H. Pogląd *Weila-Felixa* objaśniamy, jak wspomnieliśmy tem, że szczepy *W.-F.* H posiadały znaczną domieszkę O, ktora jest więcej ciepłostała. Gotowanie hodowli osłabiło zatem antygen H w większym stopniu, niż antygen O, tak że powstałe przeciwciała siłą rzeczy były skierowane więcej przeciwko O.

Spostrzeżenia *Sachsa, Weil-Felix'a* i innych, tyczące się większej swoistości odmian O rozmaitych rodzajów odmieńca potwierdza protokuł Nr. 6.

Zgodnie z *Weil-Felix'em* i *Sachsem* znajdujemy większą swoistość używając surowicy O. Widzimy, że surowica X_{19} H zlepia szczep X_2 H dwa razy słabiej, niż szczep homologiczny. Używając szczep X_{19} O do zastrzyku, otrzymaliśmy surowicę, która zlepia jedynie szczep homologiczny. A zatem widzimy rzeczywiście większą swoistość szczepu O, tymczasem gdy chwytnik H jest wspólny dla grupy X_{19} i X_2, co zgadza się z danemi *Weila-Felix'a.*

Sachs twierdzi również, że można różniczkować serologicznie szczepy X_2 i X_{19} przez aglutynację bakteryj w stanie gotowanym z surowicami swoistemi. Protokuł *Sachsa* wykazuje, że surowice X_2 i X_{19} zlepiają obie odmiany tych prątków w stanie żywym. Po ogrzaniu zaś, surowica X_2 zlepia tylko szczep X_2, jak również surowica X_{19} tylko szczep homologiczny.

Protokuł nasz nie wykazuje większej swoistości przy użyciu szczepów gotowanych.

Badania powyższe potwierdzają zasadniczo istnienie odrębnych form aglutynacji w szczepach H i O, nie potwierdzają zaś poglądu:

1) że surowice anti-O aglutynują odmianę H grudkowato,

2) że surowice chorych na tyfus plamisty aglutynują odmianę H grudkowato,

3) że szczepy ogrzewane w doświadczeniach absorbcyjnych wykazują inne chwytniki, niż nieogrzewane i że surowice, wywołane szczepami ogrzanemi, różnią się jakościowo od surowic, wywołanych szczepaami nieogrzewanemi.

Podstawy fizyko-chemiczne aglutynacji obłoczkowatej i grudkowatej.

Opisane spostrzeżenia wykazały, że chwytniki bakteryj nieogrzewanych, zbadanych przez nas, nie różnią się pod względem serologicznym od chwytników bakteryj ogrzewanych. Postać aglutynatu nie może zależeć od indywidualności chemicznej chwytników, wchodzących w grę, a jedynie od własności fizyko-chemicznych, związanych przypadkowo z tą lub inną budową serologiczną bakteryj. By zbadać podłoże tych różnic w formie aglutynacji, zastąpiliśmy surowicę swoistą solami aglutynującemi i koloidami. Podłoże

fizykalne tej aglutynacji jest wyraźniejsze: chodzi tu albo o wysalanie, spowodowane zabraniem rozpuszczalnika, lub o wytworzenie nierozpuszczalnych związków metalowo-białkowych, albo o zobojętnienie ładunku elektrycznego (jak podczas strącania przez koloidy lub jony wodorowe). i t. p.

PROTOKUŁ Nr. 10.

Aglutynacja bakteryj z elektrolitami.

	Para B		Para C		Ty		X_{19} O		X_{19} H	
	nieog.	ogrz.	nieog.	ogrz.	nieog.	ogrz	nieog.	ogrz.	nieog.	ogrz.
$CaCl_2$ 8 n . .	—	—	—	—			gr	gr	gr	gr
$BaCl_2$ 2 n . .	—	—	—	—			—	—	—	—
$ZnCl_2$ 4 n . .	MO	M	MO	O(?)	M	—	M	M	M	M
$CuCl_2$ n . . .	M	—	M	Mgr	gr	gr	—	±	gr	gr
$AlCl_3$ 1/3 n . .	—	Mgr	—	Mgr			—	gr	gr	gr
$HgCl_2$ 1/2 n . .	—	—	—	--			—	—	gr	—
$UO_2(NO_3)_2$ 1/2 n	—	—	—	gr			gr	gr	gr	gr
$KCr(SO_4)_2$ n .	—	—	—	—			—	—	—	—

Protokuł wykazuje, że sole metali aglutynują X_{19} H, zarówno ogrzewane jak i nieogrzewane, w sposób jednakowy, a mianowicie w formie mieszane lub grudkowato-mieszanej. Tak np., miedź daje czyste grudki, cyn daje grudki trochę mniej spoiste, wobec czego zanotowaliśmy aglutynację jako mieszaną. Podobne wyniki daje aglutynacj szczepów grupy durowej, przyczem niejedno krotnie stwierdzić można większą zlepli wość z bakterjami ogrzewanemi, wbrew temu co znajdujemy w surowicach swoistych. Szcze py X_{19},O i H aglutynują się z $CaCl_2$ grudkowato z miedzią zaś H aglutynuje się grudkowato, O ni aglutynuje się wcale. Żelazo koloidalne i alum nium koloidalne aglutynują zarówno szczep H i O ogrzewane, jak i nieogrzewane, w formi lekkiego obłoczka, przyczem badania mikrosk we wykazują, że większość strąconej masy skł da się z cząsteczek wypadniętego wodzian Jak widzimy, aglutynacja chemiczna daje inn wyniki, niż aglutynacja swoista: różnic w fo mie zlepnej między bakterjami ogrzewawanem a nieogrzewanemi często wykryć nie możn Aglutynacja zależy jednak w wysokim stopniu od czynnika aglut nującego, np. z miedzią bakterje aglutynują się grudkowato, z żelaze

koloidalnem obłoczkowato. Ponieważ nie możemy przypuścić, żeby bakterje posiadały rozmaite chwytniki dla tych ciał chemicznych, wniosku jemy, że podłoże fizyko-chemiczne w tych aglutynacjach jest częściowo różne. Wobec tego zbadaliśmy, w jakiej postaci zostają strącane koloidy o bardziej znanych własnościach fizykalnych. Jako koloidów ujemnych użyliśmy kwasu krzemowego, trójsiarczku arsenu, srebra koloidalnego, jako koloidów dodatnich wodzianu żelaza i aluminjum. Wszyskie koloidy strącaliśmy przez dodanie elektrolitu, zaś koloidy ujemne prócz tego przez dodanie wodzianu aluminium. Do jednego rzędu prócz tego zwykle dodawaliśmy 0,1 (1:100) surowicy.

PROTOKUŁ Nr. 11.

Technika: Jako koloidu dodatniego użyto 0,5 ccm wodzianu aluminium. Koloidu ujemnego wzięto w podanych rozcieńczeniach w ilości 0,5 ccm. Surowicę ludzką 0,1 (1%).

		Rozcieńczenie					
		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Koloidalne srebro	Bez surowicy	+++ gr	++ gr				
	Z surowicą ludzką 0,001	+++ gr	+++ gr				
Kwas krzemowy	Bez surowicy	+++ żel.	++ żel.				
	Z surowicą ludzką 0,001	++ żel.	++ żel.	++ O	+++ O	++ O	+ —
Trójsiarczek arsenu	Bez surowicy	+ O	—				
	Z surowicą ludzką 0,001	+++ O	+++ O	++ O	—		

Protokuł ten wykazuje, że kwas krzemowy i trójsiarczek arsenu wypadają w postaci obłoczka. W większych stężeniach cały płyn jest wypełniony strąconym koloidem, co robi wrażenie żelatynowej masy [1]). W mniejszych ilościach obłoczek przypomina zupełnie aglutynację szczepu H.

Zupełnie w innej formie aglutynuje się srebro koloidalne: wytwarzają się małe regularne grudki, szybko osadzające się na dnie. Ze zbadanych koloidów jedynie zawiesina koloidalna srebra wypada grudkowato.

Wiadomo, że koloidy dzielą się na liofilne (kwas krzemowy, trójsiarczek arsenu, wodziany metali), posiadające większe powinowactwo do wody i liofobne (do których zaliczają się koloidalne zawiesiny metalu), które powinowactwa tego nie posiadają.

---

1) W protokule notujemy „żel".

Koloidy liofilne otoczone są jak gdyby osłonką wodną, wobec czego nie mogą zupełnie oddzielić się od płynu i przy strąceniu cząsteczki takiego koloidu nie mogą się ze sobą zespolić. W ten sposób otrzymujemy obraz lekko zawieszonego obłoczka, który łatwo można rozproszyć. W koloidach liofobnych takich osłonek wodnych niema, cząsteczki mogą zbliżyć się do siebie i wytworzyć spoiste grudki. W związku z tym poglądem forma aglutynacji zależałaby od większego lub mniejszego powinowactwa do wody.

Przeniesienie tych punktów widzenia na aglutynację chemiczną objaśniłoby, dlaczego aglutynacja przez metale jest grudkowata. Podczas łączenia się białka z jonami metalu następuje denaturacja, a zatem zmniejszenie się powinowactwa białka bakteryjnego do wody. Dodanie metalu zmniejsza zatem stopień liofilności bakteryj, warunkując aglutynację grudkowatą. Aglutynację obłoczkowatą z wodzianem żelaza i aluminjum objaśniamy przedewszystkiem tem. że strąt składa się głównie z samego koloidu, który, jak wspomnieliśmy, wypada obłoczkowato.

Podobne punkty widzenia można zastosować do aglutynacji bakteryj ogrzewanych. Podczas ogrzewania białko bakteryjne się denaturuje i zatraca swoją rozpuszczalność, t. j. powinowactwo do wody. Nic też dziwnego, że gotowane bakterje aglutynują się podobnie jak liofobne zawiesiny koloidów [1]).

Różnice w uwodnieniu bakteryj uważa *Eisenberg* za przyczynę różnic w barwieniu gramowem. Wobec tego zbadaliśmy szczepy H i O, barwione metodą *Gráma*, w ciągu rozmaitego okresu czasu, przypuszczając, że znajdziemy różnice w zdolnościach wchłaniania lub oddawania barwnika. Doświadczenia jednak żadnych różnic nie wykazały. Podług *Klingera* bakterje lepiej uwodnione absorbują się gorzej przez drzewnik, a temsamem wznoszą się wyżej po bibule. Pogląd ten sprzeciwia się hipotezie postawionej przez nas, mianowicie, że szczepy H są lepiej uwodnione, niż O, ponieważ, jak wykazują nasze badania, szczepy H wznoszą się do wysokości 1 cm., tymczasem gdy szczepy O można było znaleść jeszcze na wysokości 6-ciu cm.

Stosunek uwodnienia do absorbcyjności przez drzewnik nie jest jednak dość jasny, żeby na mocy tych doświadczeń budować teorję. Podobne próby, przerobione z koloidami, wykazały np., że srebro koloidalne, źle uwodnione, wznosi się z łatwością po bibule do wysokości kilku cm. tymczasem gdy żelazo koloidalne, lepiej uwodnione, nie podnosi się prawie wcale.

O ile nie chodzi w tym przypadku o silniejszą absorbcję elektryczną przez drzewnik, zjawisko to przemawiałoby wprost przeciw hipotezie, że małe uwodnienie jest przyczyną gorszego wnoszenia się.

---

[1]) Uwaga: Różnice fizykalne między szczepami H i O można wykazać np. obserwując wznoszenie się bakteryj po bibule, metodą *Friedbergera* i *Püttera*. Typ O wznosi się z łatwością do 5—6 cm, typ H najwyżej do 1 cm., daje się łatwiej odwirować, wypada przy innych Ph. etc. Szczepy H można łatwiej strącić przez $(NH_4)_2SO_4$, posiadają zatem więcej lub łatwiej strącalne białko.

Zrozumiałą jest rzeczą, dlaczego nagrzane szczepy H posiadają strefę zahamowania, której nie mają szczepy O: posiadają one mianowicie—według tego poglądu—więcej białka hydrofilnego, które po nagrzaniu staje się śluzowatem i wstrzymuje silnie wodę pęcznienia.

Bakterje, dające aglutynację obłoczkowatą, musielibyśmy zatem uważać za posiadające większą ilość łatwo rozpuszczającego się białka, które po nagrzaniu do 60°—70° C pęcznieje; dopiero przez dalsze ogrzewanie denaturacja białka doprowadzona zostaje tak daleko, że zatraca się powinowactwo do wody i bakterje wypadają w postaci grudek. Bakterje, dające aglutynację grudkowatą, jak szczepy O lub *Para C*, posiadają według tego poglądu białko, którego własności fizykalne zbliżają się do białka gotowanego.

Nadmienić musimy, że aglutynat obłoczkowaty zajmuje na dnie probówki wirówkowej zawsze więcej miejsca, niż aglutynat grudkowaty. Podług naszej hipotezy bakterje zaglutynowane oddzielone są cząsteczkami wody. Hipotezę powyższą spróbowaliśmy wyjaśnić przez określenie ilości zawartej wody w aglutynacie H i O.

PROTOKUŁ Nr. 12.

Technika: 10 cm³ zawiesiny wlano do dużej probówki wirówkowej i wirowano ją 1 godz. Waga probówki była znana. Po tym czasie wylano płyn z nad osadu. Probówkę umieszczono na bibule do góry dnem i, po ścisłem odważeniu, umieszczono w eksykatorze: ważono codziennie, aż do otrzymania stałej wagi.

Zawiesina nieaglutynowana	Wody	Zawiesina aglutynowana z surowicami homologicznemi	Wody
X19 O nieogrz. zawierała	80.3%	X19 O nieogrz. zawierało	81.4%
X19 O ogrz. zawierała	73.3%	X19 O ogrz. zawierało	81.2%
X19 H nieogrz zawierała	83.8%	X19 H nieogrz. zawierało	84.9%
X19 H ogrz. zawierała	79.9%	X19 H ogrz. zawierało	81.0%

Różnice okazały się dość małe; ciekawą jest jednak rzeczą, że żywe szczepy H stale zawierają więcej wody, niż żywe szczepy O, tymczasem, po nagrzaniu, ilość wody w H jest taka sama, jak w O.

Przyczynę odrębnej formy aglutynacji upatrujemy zatem nie w odrębnych chwytnikach, warunkujących różne powinowactwo do przeciwciał, a w różnem powinowactwie rozmaitych bakteryj do wody.

PIŚMIENNICTWO.

1. Bauch i Hamburger. Deut. Med. Woch. 1917 Nr. 36.
2. Bechhold. Zeit f. phys. Chemie 1904. Nr. 48.
3. Bechhold, Neisser i Friedemann. Münch. Med. Woch. 19(
Nr 11 i 19.
4. Braun. Berl. Klin. Woch. 1918 Nr. 27.
5. Braun i Schaeffer. Berl. Klin. Woch. 1919 Nr. 18.
6. Braun i Salomon. Deut. Med. Woch. 1918 Nr. 3.
7. Büchner i Zollner. Zeit f. Imm. 1921 t. 33 Nr. 2.
8. Csepai. Wien. Klin. Woch. 1917 Nr. 38 i 40.
9. Dreyer. British. Med. Jour. 1904 (cyt. podł. *Porgesa*).
10. Eisenberg. Centr. f Bact. 1902 (cyt. podł. *Porgesa*).
11. Eisenberg. Przegląd Epidemj. 1920 tom I zeszyt 3.
12. Eisenberg i Volk. Zeit f. hyg. 1902 (cyt. podł *Porgesa*).
13. Eissler i Silberstein. Zeit f. Hyg. 1921 t. 93 Nr. 2/3.
14. Friedberger. Münch. Med. Woch. 1919 Nr. 66.
15. Felix i Mitzenmacher. Wien. Kl. Woch. 1918 Nr. 36.
16. Hirszfeld. Arch. f. Hyg. 1907 t. LX.
17. Joos. Centr. f. Bact. 1903 t. 33 Nr. 10.
18. Kraus i Joachim Centr f. Bact. 1904 t. 34 Nr. 5 i t. 37 Nr. 1.
19. Klinger. Müñch. Med. Woch. 1920 Nr. 67.
20. Neisser i Friedemann. Münch. Med. Woch. 1904 Nr. 11 i 19.
21. Obermeyer i Pick. Wien. Kl. Woch. 1903 Nr. 22 1904 Nr. 10.
22. Paltauf. Deut. Med. Woch. 1903.
23. Porges. Centr. f. Bact. 1905 t. 39 Nr. 3 1905 t 41 Nr. 4.
24. Porges. Wien. Kl. Woch. 1905 Nr. 26.
25. Sachs. Deut. Med. Woch. 1918 Nr. 17.
26. Seifert. Zeit f. Imm. 1920 t. 30 Nr. $^5/_6$.
27. Weil-Felix. Wien. Kl. Woch. 1917 Nr. 48.
28. Weil-Felix. Wien. Kl. Woch. 1918 Nr. 23 i Nr. 36.
29. Weil-Felix i Mitzenmacher. Wien. kl. Woch. 1918 Nr. 46.
30. Weltman i Seufferheld. Wien. Kl. Woch. 1918 Nr. 52.

Aus dem Institut für Serumforschung in Warschau
Direktor Dr. L. Hirszfeld.

ZUSAMMENFASSUNG

Ueber die antigenen Eigenschaften der Typhus, Paratyphus und Proteusstämme.

von L. HIRSZFELD und J. SEYDEL.

Im Gegensatz zu *Weil* und *Felix* konnten Verff. keinen qualitativen Unterschied zwischen den antigenen Eigenschaften der gekochten und ungekochten Bakterien finden (es wurden Typhus, Paratyphus B, Paratyphus C, X_{19} (H und O) und X_2 O) geprüft. Die mit gekochten Stämmen hervorgerufenen Sera waren zwar schwächer, gaben aber keine andere Form der Agglutination, als die mit lebendigen Bakterien hergestellten. Durch Absorbtionsversuche konnte das Vorhandensein von zwei Receptoren bei den ungekochten Stämmen und von zwei besonderen gegen sie gerichteten Antikörpern nicht erwiesen werden. Die gekochten Bakterien absorbieren ungefähr 20 bis 30 mal schwächer, als die ungekochten, agglutinieren auch schwächer. Es kann daher vorkommen, dass nach Absorbtion mit gekochten Bakterien die gekochten nicht mehr, die ungekochten aber noch weiter agglutiniert werden. Die genaue Titrierung ergibt aber stets auch für lebendige Bakterien eine Abnahme des Titers, die Form des Agglutinats bleibt dabei dieselbe.

Die von *Porges* beobachtete Hemmungszone bei auf 80° erhitzten Bakterien zeigen hauptsächlich grobflockig agglutinierende Bakterien, bei kleinflockig agglutinierenden, wie *Para C*, oder Stämme X_{19}O, ist die Hemmungszone nur wenig ausgesprochen.

Das Anti X_{19} H Immunserum, hergestellt durch dreimalige Injektion von H Kulturen, agglutiniert sowohl H als O Stämme. Die Antikörper gegen O lassen sich durch O Kulturen absorbieren, wobei der Titer für H Stämme um ca. 50% abnimmt. Das Anti H Immunserum besitzt demnach besondere, durch Absorbtion trennbare, Antikörper gegen O. Das Anti O Serum agglutinierte nur den O Stamm und beeinflusste nicht im geringsten die H Kultur.

In den Versuchen von *Weil-Felix* agglutinierte das O Serum die H Stämme kleinflockig. Verff. nehmen daher an, dass die H Stämme, selbst wenn sie kulturell gleich aussehen, bereits serologische Differenzen aufweisen. Die den Verff. von *Weil* zugeschickten Kulturen waren offenbar serologisch reiner, als während der Versuche von *Weil-Felix*. Die in ihnen enthaltene O Menge konnte zwar die Antikörperbildung veranlassen, genügte aber nicht, um eine Agglutination zu bewirken.

Untersuchungen mit diesen „reinen" H Kulturen ergaben, dass Flecktyphussera die H Stämme fast immer grobflockig agglutinieren. Auf 39 untersuchten Flecktyphussera mit H Kulturen war in 32 Fällen die Agglutination rein grobflockig, in 2 Fällen gemischt und in 5 Fällen negativ, während die O Stämme immer kleinflockig agglutiniert wurden. Das Vorhandensein eines reinen „O Antigens" in Krankenkörper ist somit sehr selten.

Während bei Anti H Immunseren die mitentstandenen O Agglutinine von H Agglutininen durch Absorbtion getrennt werden konnten, gelang dies bei Flecktyphusseren nicht. Der Unterschied zwischen dem Flecktyphus- und Immunserum bestand also nicht in der Form des Agglutinats, sondern in der Nichttrennbarkeit der Anti H und Anti O Agglutinine. Verff. diskutieren die Möglichkeit, dass bei den Kulturen eine Trennung der Antigene stattfindet, die eine Bildung von 2 besonderen Antikörpern veranlasst, während die „H" und „O Antigene" bei Flecktyphuskranken vereinigt sind.

Trotzdem die H Stämme die O Agglutinine aus dem Flecktyphusserum absorbieren, agglutinieren sie rein globflockig. Die Anwesenheit in einer Kultur des O Receptors und eines entspechenden Antikörpers braucht somit keine kleinflockige Agglutination zu bewirken.

Gekochte H Stämme veranlassten bei Kaninchen Antikörper sowohl gegen H wie gegen O.

Die Salze der Schwermetalle agglutinieren alle Bakterienarten (gekochte wie ungekochte) gemischt oder kleinflockig, nur Eisen und Aluminium-Hydroxyd agglutinieren die Bakterien grobflockig. Kieselsäure, Arsentrisulfid (negative Kolloide), Eisenhydroxyd und Aluminiumhydroxyd (positive Kolloide) fallen sowohl bei gegenseitiger Fällung wie bei Fällung durch Elektrolyte grobflockig, während kolloidales Silber kleinflockig ausfällt. Da die ersten den liophilen, das kolloidale Silber den liophoben Kolloiden gehört, stellen sich Verff. vor, dass das mit den Teilchen der liophilen Kolloide verbundene Wasser eine engere Aneinanderlagerung verhindert. Die H Bakterien agglutinieren demnach wie liophile, die O Bakterien wie liophobe Kolloide. Dieser Befund erklärt, warum gekochte Bakterien kleinflockig agglutiniert werden: durch Koagulation der Eiweisskörper beim Kochen wird die Affinität zum Wasser herabgesetzt; die gekochten Bakterien werden dann wie liophobe Kolloide ausgefällt. Die Schwermetallsalze agglutinieren kleinflockig, da sie eine Denaturierung der Eiweisskörper und dadurch eine Herabsetzung der Affinität zum Wasser bewirken.

Während also *Weil* und *Felix* die kleinflockige Form der Agglutination bei gekochten Bakterien auf Vorhandensein eines besonderen thermostabilen Receptors zurückführen, sind nach Verff. die Antigene der gekochten und ungekochten Bakterien serologisch gleich und lediglich physikalisch verschieden, indem bei gekochten Bakterien die Affinität zum Wasser herabgesetzt ist und sie daher wie andere liophobe Kolloide in kleinen kompakten Flocken ausfallen.

Physikalische Unterschiede zwischen H und O Stämmen werden schon beim Zentrifugiren festgestellt: die H Stämme lassen sich schwerer abzentrifugieren. In dem von *Friedberger* und *Pütter* angegebenen Steigversuch [1]) auf Filtrirpapier steigen die O Stämme fast 8 mal höher als die H Stämme, auch fallen sie bei anderen H· Concentrationen aus.

---

[1]) Der Einwand, dass die leichtere Steigbarkeit der O Stämme gegen die Annahme einer schwächeren Lyophilie spricht, lässt sich experimentell widerlegen, indem das lyophobe kolloidale Silber höher steigt, als das Eisenhydroxyd. Offenbar spielen hier nach andere Momente eine Rolle.

Z Państwowego Zakładu Epidemjologicznego w Warszawie.
(Dyrektor Dr. Ludwik Rajchman).

Badania doświadczalne nad durem plamistym.

Podała

Dr. H. SPARROW.

DONIESIENIE I-sze.

Przebieg duru plamistego u zwierząt laboratoryjnych.

Nikomu dotąd nie udało się wyhodować zarazka duru plamistego *in vitro*. W badaniach nad durem plamistym musimy się narazie zadowolnić materjałem, pobieranym od chorego człowieka lub hodowlą w zwierzętach doświadczalnych. Zwierzęta te, zakażone, przechodzą dur plamisty w formie więcej bądź mniej ciężkiej. Z używanych powszechnie zwierząt laboratoryjnych do hodowli zarazka duru plamistego służyć mogą jedynie małpy i świnki morskie. Wobec kosztów i trudności sprowadzania małp świnki stały się najczęściej używanym materjałem w pracach doświadczalnych nad durem.

Zarazek duru plamistego, przeszczepiany ze świnki na świnkę, przechodził niejednokrotnie szereg pasaży w ciągu kilku lat. *Da Rocha Lima* hodował go w 34 pasażach w ciągu roku, *Nicolle* w 103 pasażach w ciągu 3 lat, *Olitzki* hodował szczep duru plamistego przez 5 lat.

Celem otrzymania szczepu duru plamistego do naszych badań, użyto krwi 19 chorych na dur plamisty; krew tę wstrzyknięto, bezpośrednio po pobraniu, do otrzewnej 10 świnkom, po 5 cm.^{3} każdej. Chorzy, których krew użyto, stanowili przypadki duru średniej ciężkości, bez komplikacji, o wybitnej wysypce i znajdowali się w okresie największego nasilenia choroby (9—12 dzień).

Z liczby świnek, zaszczepionych krwią chorych, w 9 dni po szczepieniu jedna (świnka Nr. 5) dała nieznaczne, lecz stałe podniesienie ciepłoty o 0,5°C powyżej normy. W 7-ym dniu gorączki świnka została zabita. Normalny obraz sekcyjny nie wskazywał na możliwość postronnego zakażenia. Z mózgu tej świnki przygotowano zawiesinę i zakażono nią świnkę następnego pasażu, wprowadzając zawiesinę do otrzewnej. Szczep, pochodzący z tej świnki (św. Nr. 5) przeszedł w ciągu roku 23 pasaże, użyty

został do doświadczeń i przechowywany był stale w świnkach. Na tabl. I podajemy schemat pasaży szczepu.

TABLICA I.

Schemat pasaży szczepu duru plamistego w świnkach morskich od 25/I 1921 r. do 15/XII 1921 r.

Inna z zaszczepionych świnek (Nr. 6) dała także, na 10-ty dzień, stałe podniesienie ciepłoty o 0,7°C powyżej normy. W 11-ym dniu świnka ta padła

sekcja wykazała zapalenie płuc. Zawiesiną jej mózgu zakażono nową świnkę (Nr. 14); i u tej świnki obserwowano następnie typowy przebieg duru plamistego.

Z pozostałych 8 świnek, 4 padły na 5-y, 9 y, 10-y dzień po wstrzyknięciu. Sekcja wykazała zakażenia wtórne: wysięk w jamie brzusznej i zapalenie płuc. Krzywe ich temperatury nie odpowiadały typowi właściwemu dla duru plamistego. Pozostałe 4 świnki (Nr. 1, 4, 7, 8) nie zachorowały wcale. Temperatura, mierzona w ciągu 6 tygodni do 2 miesięcy, nosiła charakter stały i nie przekraczała poziomu temperatury normalnej. Świnki te nie podległy więc zakażeniu krwią chorych. Po upływie 8 miesięcy 2 z nich (Nr. 4 i 8) zostały zakażone jadem pasaży (zawiesiną mózgu świnki chorej na dur plamisty) z wynikiem wybitnie dodatnim.

Technika przeszczepiania jadu.

Technika, używana celem przeszczepiania jadu, była następująca. Mózg świnki, chorej na dur plamisty i zabitej w 5 — 8 dniu choroby, wyjęty jałowo (waga średnia 3,5 – 4 gr.), był rozcierany w rozczynie fizjologicznym soli tak, aby 1 cm.^{3} tej zawiesiny zawierał 0,3—0, 25 gr. mózgu; zawiesinę tak sporządzoną zlewano do kieliszka jałowego i przykrywano go jałową płytką *Petrie'go*. Po opadnięciu błonek i większych cząsteczek tkanki na dno, zawiesinę wstrzykiwano świnkom do otrzewnej (1—2 cm.^{3}), dezynfekując poprzednio skórę spirytusem Waga świnek używanych niezawsze wynosiła 250—300 gr., jak zalecają inni badacze; wśród użytych były świnki od 200—500 gr. wagi. Nie zauważyliśmy jednak, by przy dawkach, które się wahały od 0,25 do 0,6 gr. substancji mózgowej, a najczęściej stanowiły 0,3 gr., świnki o większej wadze były mniej wrażliwe od najmniejszych. Z 4 świnek, które w przebiegu naszych doświadczeń nie zachorowały, jedna ważyła 250 gr., dwie 350 i jedna 450 gr. Sądzę, że waga w tym wypadku nie miała wpływu na ujemny wynik doświadczenia.

Świnkom zdrowym, które były przeznaczone do doświadczeń, mierzono uprzednio, w ciągu tygodnia, codziennie temperaturę, aby mieć większą pewność, że używamy do szczepienia zwierzęta zdrowe. Temperatura normalna naszych świnek wahała się od 37,5°—38,5°. Temperatura normalna świnki morskiej podawana jest przez rozmaitych autorów w różnej wysokości. *Otto, Dietrich* i *Friedberger* notują 37,5°—38,5°, *Doerr* i *Pick* 38°—38,5°, *Nicolle* 38,5°—39,5°. Okazuje się, że normalna temperatura świnki morskiej zależy w wysokim stopniu od temperatury zewnętrznej, od klimatu danej miejscowości i od pory roku. Latem ciepłota świnki jest wyższa, niż w zimie. Według *Kraussa* i *de la Barrera* temperatura świnki w Sant Jago de Chili wynosi 37° do 38°, a po przewiezieniu jej do Buenos Aires 39°—39,9° i jest taką samą, jak temperatura świnek, urodzonych w Buenos Aires.

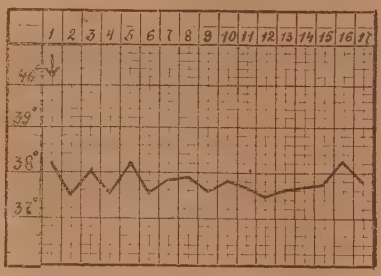
Aby wyłączyć wpływy postronne na wahania mierzonej temperatury, należy ustalić metodę mierzenia: mierzyć zawsze o tej samej porze dnia, powierzając tę czynność stale tej samej osobie, odpowiednio wyszkolonej. Temperaturę świnek mierzyć należy *per rectum*, wprowadzając termometr

na głębokość 3 cm. i pozostawiając przez 3—5 minut; termometr przed każdem użyciem należy dezynfekować spirytusem i zanurzyć koniec w oliwie lub w płynnej parafinie. Świnkę trzymamy w lewej dłoni, nogami do góry, z podniesionym tyłem tułowia. Przy takim sposobie mierzenia temperatury, żadnej ze 100 użytych świnek ani razu nie uszkodzono odbytnicy, co stwierdzono na sekcjach.

W kilku doświadczeniach świnek nie zabijano, lecz brano 2—3 cm.^{3} krwi z serca chorej świnki i natychmiast zakażano następną świnkę, wstrzykując krew do otrzewnej. Zazwyczaj, przenosząc szczep na świnki następnego pasażu, zakażano zawiesiną mózgu równocześnie 2—3 świnki, aby zapewnić zachowanie szczepu w razie, gdyby jedna ze świnek padła wskutek zakażenia postronnego. Wszystkim szczepionym świnkom mierzono temperaturę i dla dalszych przeszczepów zabijano tę świnkę, której krzywa temperatury w przebiegu choroby okazała się najbardziej typową dla duru plamistego. Za każdym razem świnki dokładnie sekowano. Jeżeli obraz sekcyjny był normalny, wyjmowano jałowo mózg, robiono posiew ze krwi i zawiesiny mózgu i tą zawiesiną zakażano świnki następnego pasażu.

TABLICA II.

Temperatura świnki normalnej.



Ze 100 użytych świnek, 36 padło z objawami wtórnego zakażenia; z nich u 13 stwierdzono zapalenie płuc, u 5 wysięk krwawy lub surowiczy, który okazał się jałowym, u 4 stwierdzono pseudo-tuberculosis, u 1 zapalenie opłucnej i włókniste zapalenie osierdzia; u jednej tylko znaleziono ropne zapalenie otrzewnej, spowodowane niedostateczną aseptyką podczas roboty. W niektórych przypadkach (5 razy) zmuszeni byliśmy użyć do dalszych przeszczepów świnki chore na dur plamisty, u których sekcja stwierdziła objawy wtórnego zakażenia. Szczep oczyszczał się w następnych już pasażach i świnki, zakażone szczepem zanieczyszczonym, chorowały tylko na dur plamisty.

Pierwszy szereg doświadczeń wykazał reakcję świnek na wstrzykiwanie zawiesiny mózgu świnki normalnej. Jak widzimy z krzywej (tablica Nr. III) wstrzykiwanie to jakichkolwiek wahań ciepłoty nie wywołuje; świnki znoszą je zupełnie obojętnie.

Przebieg duru plamistego u świnek.

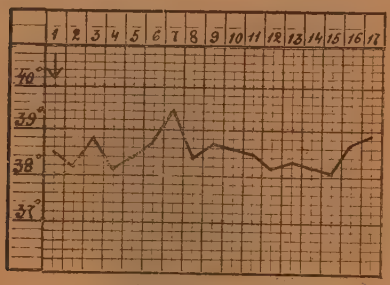
Wstrzykiwanie zawiesiny mózgu świnki, chorej na dur plamisty, nie wywołuje zazwyczaj u świnki szczepionej bezpośredniej reakcji cieplnej. Dopiero po upływie okresu wylęgania, temperatura zaczyna się podnosić. Dur plamisty u świnek przejawia się jedynie w podniesieniu ciepłoty i obni-

żeniu wagi ciała. Świnki przechodzą dur lekko, zachowują normalny, zdrowy wygląd, apetytu nie tracą.

Na tablicy IV podajemy zestawienie okresu wylęgania i okresu choroby u ludzi i u świnek. Dla świnek podajemy dane *Nicolle'a*, *Weila* i nasze, obliczone w odsetkach. Przy zestawieniu porównawczem widzimy, że liczby te nie są jednakowe. Różnice i odchylenia powstają prawdopodobnie wskutek różnic w technice pracy w poszczególnych laboratorjach i indywidualnych właściwości szczepów, któremi operowano (Patrz tabl. IV).

TABLICA III.

Świnka szczep. mózgiem świnki normalnej.



Według *Weila* okres wylęgania duru plamistego u świnek trwa od 5—7 dni bez odchyleń (obliczono na 330 świnkach). Według *Nikolle'a* wylęganie trwa dłużej; świnki zachorowują najczęściej w 8—11 dniu, lecz okres ten trwać może także od 5 do 21 dni. Liczby te zbliżają się do odpowiednich liczb z okresu wylęgania duru u ludzi, podanych przez *Hamdie'go* i obliczonych zupełnie dokładnie z doświadczeń D-ra *O. H.* W doświadczeniach moich okres wylęgania, obliczony na zasadzie danych, dotyczących 50 świnek, trwa od 4—14 dni; najwięcej świnek zachorowało w okresie między 5—9 dniem po zakażeniu. Ponieważ dawki stosowane były mniej więcej jednakowe, więc wielkość dawki nie miała wpływu na okres wylęgania. Wahania w trwaniu tego okresu zależeć mogły od indywidualnych właściwości świnek, od okresu choroby, w którym mózg był pobrany i od przypuszczalnej zmienności jadu.

Z 50 świnek, które zachorowały na dur plamisty, 29 użyto kolejno do przeszczepiania, 21 przebyły chorobę. Na zasadzie więc 21 przypadków możemy obliczyć długość okresu gorączkowego u świnek. Okres ten trwał od 3 do 12 dni, w jednym przypadku 15 dni; najczęściej świnki chorowały od 6 do 10 dni. Według *Weila* liczby, odpowiadające okresowi gorączki oraz wylęgania, podlegają mniejszym wahaniom (Patrz tabl. V).

Ażeby otrzymać przeciętne podniesienie się ciepłoty dla każdego przypadku, zestawiano najwyższą temperaturę świnki chorej z temperaturą normalną tejże świnki. Wyniki tych zestawień są następujące: Temperatura świnek podnosiła się o 0,5° — 2,3°, najczęściej od 1° — 2° (82% wszystkich świnek). U świnek pierwszego pasażu, szczepionych krwią chorych, to podniesienie ciepłoty było bardziej nieznaczne, niż u świnek zakażonych jadem pasaży w postaci zawiesiny mózgu. Temperatura podnosiła się zwykle stopniowo, w ciągu 2—3 dni dochodziła do maksimum, pozostawała na tej wysokości bez wahań znaczniejszych w ciągu kilku dni, następnie stopniowo się obniżała i w ciągu 2—3 dni spadała do normy. Krzywa temperatury świnek przypomina krzywą temperatury ludzi chorych na dur plamisty, jest tylko znacznie niższa i krótsza. Podajemy

TABLICA IV.

Dni wylęgowe	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Ludzi zachorowało w/g Hamdiego w %			1	2	6	7	10	12	11	18	6	4	6	3	3	2	2	3	1	2	1
Świnek zachor. w/g Nicolle'a w % (182 św.)			2	7	6	16	20	18	11	6	3	3	1,5	2	1,5	1	1		1		
Świnek zachor. w/g Weila w % (330 św.)			12	64	24																
Świnek zachorowało w naszych doświadczeniach w % (50 św.)		4	10	12	20	14	16	8	6	2	2	6									

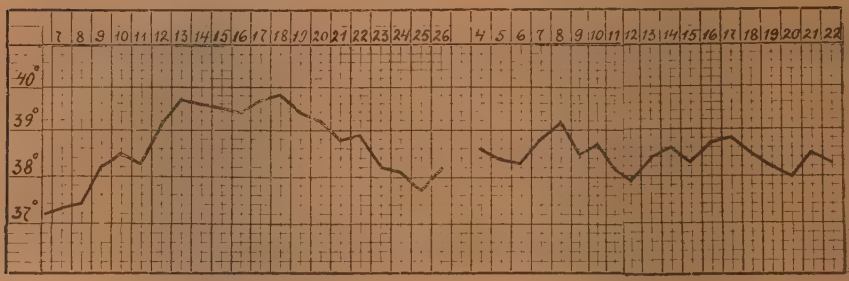
TABLICA V.

Dni gorączki u świnek	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
W/g Weila w % (ze 100 św.)			10	24	28	21	8	5	2	2											
W naszych doświadczeniach (z 20 św.) .	5			15	10	20	10	15	5		5		5								

dla porównania typowe krzywe: chorego na dur plamisty człowieka (tablica VI) i świnki (tablica VII).

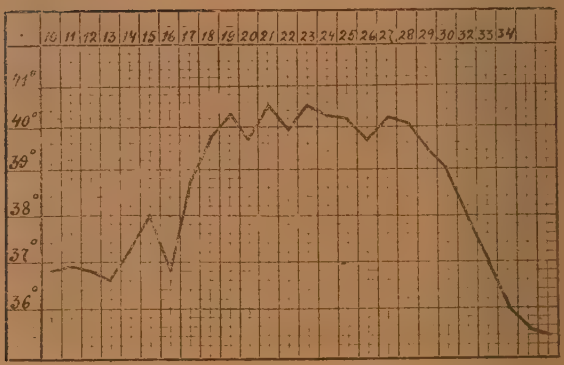
TABLICA VI.

Świnka Nr. 14, szczepiona mózgiem świnki Nr. 6 (0,4 do otrzewnej) — typowy dur plamisty. Po trzech miesiącach świnka została zakażona powtórnie mózgiem świnki Nr. 21 — okazała się odporną.



TABLICA VII.

Dur plamisty u człowieka.



Odchylenie od tego typu krzywej widywaliśmy dość często. Do nietypowych form duru zaliczamy przypadki o krzywej ze znacznemi wahaniami temperatury, przypadki o krótkim przebiegu i nieznacznym podniesieniu ciepłoty, a także o niezwykle długim okresie wylęgania i długo trwającej gorączce (Patrz. tabl. VIII, IX, X, XI).

Na 42 przypadki typowe było 9 nietypowych, lecz i w tych przypadkach dur plamisty można było stwierdzić zapomocą dalszych przeszczepów i zjawisk odpornościowych. W 4 przypadkach świnki zakażone nie chorowały wcale. Obliczając cyfry wspomniane w odsetkach otrzymamy:

78% świnek zakażonych jadem pasaży zachorowało typowo

14½% świnek zakażonych jadem pasaży zachorowało nietypowo

7½% świnek zakażonych jadem pasaży nie chorowało wcale.

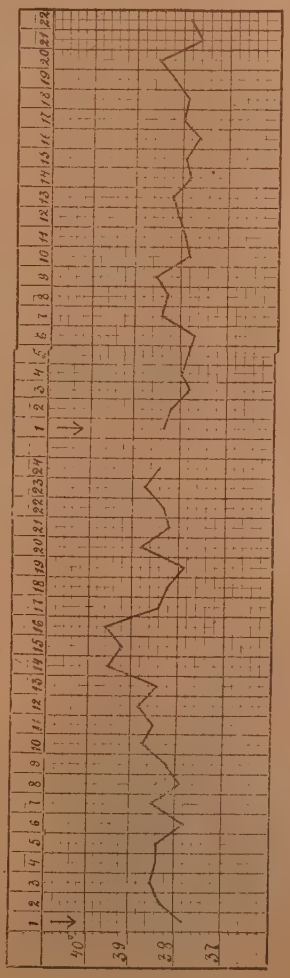
W przebiegu choroby waga ciała świnki zawsze się obniża. Świnki tracą na wadze od kilkunastu do kilkudziesięciu gramów (10, 15, 20, 40 gr.). Największe obniżenie przypada na okres gorączkowy, lecz i w okresie wylęgania waga ciała świnki obniża się o kilka gramów.

Zmiany anatomo-patologiczne w durze plamistym u świnek morskich uwidoczniają się makroskopowo jedynie w przekrwieniu narządów wewnętrznych, przyczem śledziona jest powiększona; mózg i opony są przekrwione w każdym przypadku. Obraz sekcyjny tego typu wyłącza istnienie zakażenia wtórnego, co potwierdzają też ujemne wyniki badań bakterjologicznych krwi i zawiesiny mózgu. Wśród świnek, zbadanych pod względem anatomo-patologicznym, zanotowaliśmy zaledwie dwie, u których znaleźliśmy włókniste zapalenie osierdzia ze zwyrodnieniem mięśnia sercowego i jeden przypadek wylewu krwi do opłucnej; niejednokrotnie można było zauważyć drobne krwawe wybroczyny na wewnętrznej stronie skóry świnek.

Rozpoznanie duru plamistego za życia świnki, jak widzimy z opisu klinicznego choroby, opieramy jedynie na zasadzie typowej ciepłoty po odpowiednim okresie wylęgania. Objaw ten nie jest zupełnie pewny i zakażenie wtórne może go również spowodować.

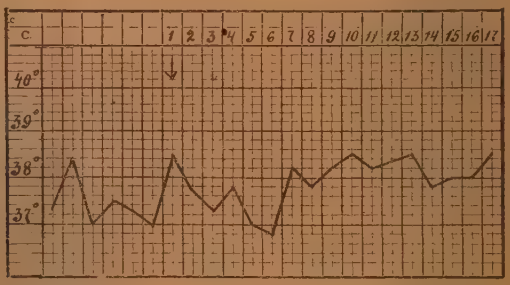
TABLICA VIII.

Świnka Nr. 24, zakażona 0,4 gr. mózgu świnki Nr. 21; wylęganie trwało 13 dni, choroba 3 dni, temperatura podniosła się o 0,7°. Niezwykle krótki przebieg gorączki nasuwał wątpliwości co do świoistości choroby. Po upływie 5 miesięcy świnkę szczepiono po raz drugi; świnka okazała się zupełnie odporną.



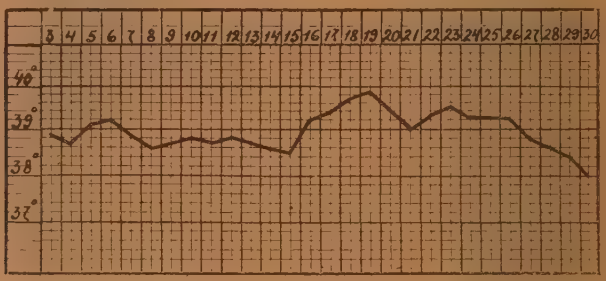
TABLICA IX.

Świnka Nr. 5, zakażona krwią chorego; od niej pochodzi nasz szczep laboratoryjny. Temperatura podniosła się tylko o 0,5°.



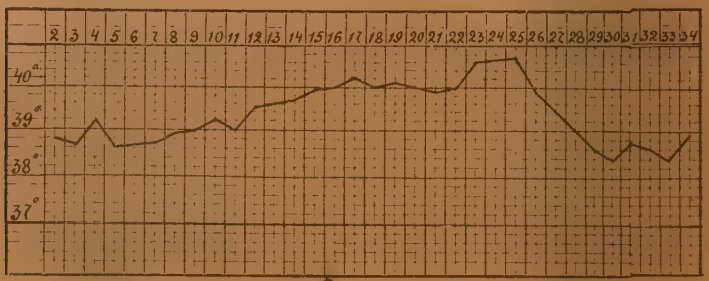
TABLICA X.

Świnka Nr. 82, zakażona mózgiem świnki Nr. 72; bardzo długi okres wylęgania (14 dni).



TABLICA XI.

Świnka Nr. 77, zakażona mózgiem świnki Nr. 72; bardzo długi okres gorączkowy (15 dni).



Aby badaniom laboratoryjnym nadać ścisłości, a otrzymanym wynikom pewności, konieczną jest rzeczą stwierdzenie, poza okresem wylęgania i typową krzywą ciepłoty, jeszcze całego szeregu danych. Dane te muszą dotyczyć: obrazu anatomicznego (jest on normalny), hodowli krwi (z wynikiem ujemnym), obrazu histologicznego mózgu (swoiste schorzenia drobnych naczyń krwionośnych), zjawisk odporności na zakażenia ponowne i wywołania odczynu *Weila-Felixa* u króli, szczepionych mózgiem świnek, chorych na dur plamisty (p. Doniesienie II).

W skrawkach mózgu zawsze stwierdzaliśmy obecność znanych i dla duru plamistego swoistych schorzeń ogniskowych drobnych naczyń krwionośnych. [1])

Odporność.

Zjawiska odpornościowe u świnek, zarówno jak i u innych zwierząt laboratoryjnych, które przebyły dur plamisty, nie zostały jeszcze zupełnie wyświetlone. Liczne dane epidemjologiczne wykazały, że dur plamisty u ludzi wytwarza trwałą odporność. W przebiegu tej choroby ustrój człowieka nabywa odporności niezależnie od tego, czy przebieg był ciężki, średni lub poronny. Przypadki powtórnego zakażenia należą do nadzwyczajnych wyjątków *(Curschmann i Jürgens)*. Szereg badaczów stwierdza, że ozdrowieńcy po durze plamistym mogą żywić na sobie przez czas dłuższy wszy zakażone, nie podlegając ponownemu zakażeniu, a w kilka lat po chorobie znoszą bez najmniejszej reakcji 0,5—0,7 mózgu świnki, chorej na dur plamisty *(Doerr i Starkenstein)*.

Dur plamisty doświadczalny u zwierząt (u świnek morskich i u małp) wytwarza, tak samo jak u człowieka, zupełną i długo trwającą odporność, lecz zdaniem *Nicolle'a, Andersona i Goldbergera, Kirschnera i Russa*, tylko po typowym przebiegu choroby. Formy poronnne (*formes abortives*), według wspomnianych autorów, zwierząt nie uodporniają. Odmienny pogląd w tej sprawie wypowiadają: *Doerr, Pick, Schnabel, Vöchting*, a także *Weil, Breinl i Gruschka*, którzy, na zasadzie licznych doświadczeń, dowodzą, że nie tylko formy poronne duru plamistego, lecz i postacie ukryte (*infections inapparentes*), uodporniają zwierzęta tak samo, jak ludzi. *Weil* i jego współpracownicy twierdzą, że odporność po jednokrotnem zakażeniu można zawsze stwierdzić nie tylko u świnek, lecz i u króli, u których dodatni odczyn *Weila-Felixa* jest jedynym objawem choroby. Odczynu tego nie udaje się wywołać ponownie, drogą wielokrotnego wstrzykiwania jadu zjadliwego.

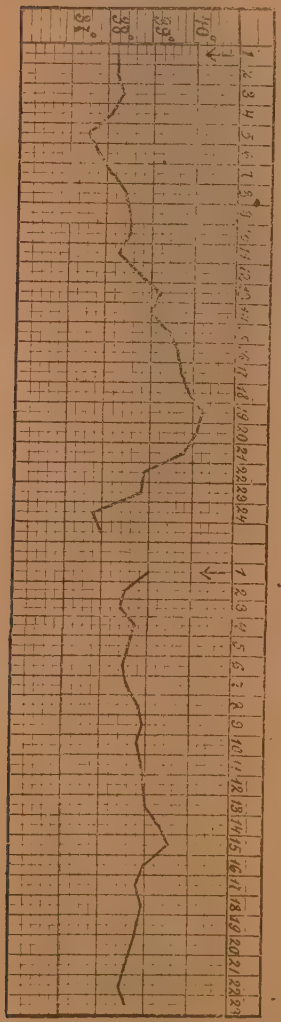
Zdaniem *Weila, Doerra* i innych, zarazek duru plamistego, wprowadzony do organizmu wrażliwego (świnki) w ilości niedostatecznej, lub do organizmu zwierząt mało wrażliwych (jak król i szczur), nawet w znacznej ilości, nie może spowodować choroby z całokształtem objawów. Jednak zarazek w tych warunkach nie ginie, a rozmnaża się i przechodzi pewien cykl rozwojowy; organizm zakażony choruje bez podniesienia ciepłoty

[1]) Histopatologja duru plamistego doświadczalnego dokładniej będzie omówiona w Doniesieniu III.

i bez widocznych objawów chorobowych; krew i narządy w przebiegu *infection inapparente* stają się zakaźnemi dla zwierząt wrażliwych. Wskutek tej ukrytej formy duru powstaje trwała i długo trwająca odporność.

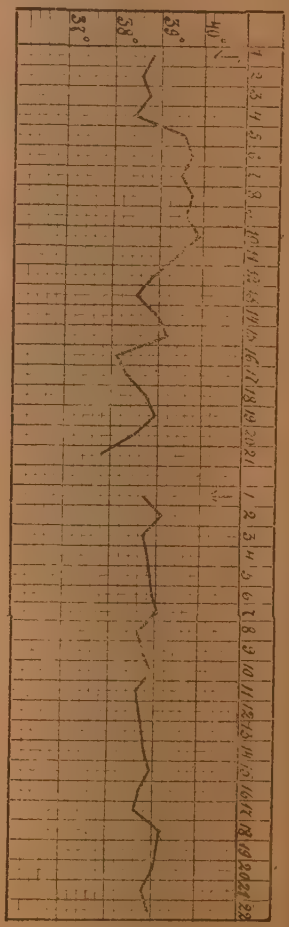
TABLICA XII.

Świnka Nr. 51, zakażona mózgiem świnki Nr. 47 (0,6 do otrzewnej) — typowy dur plamisty; po dwuch miesiącach zakażona powtórnie mózgiem świnki Nr. 72 (0,4 do otrzewnej) — odporna.



TABLICA XIII.

Świnka Nr. 54, zakażona mózgiem świnki Nr. 50 (0,4 do otrzewnej) — typowy dur plamisty; po trzech miesiącach zakażona powtórnie mózgiem świnki Nr. 72 — odporna

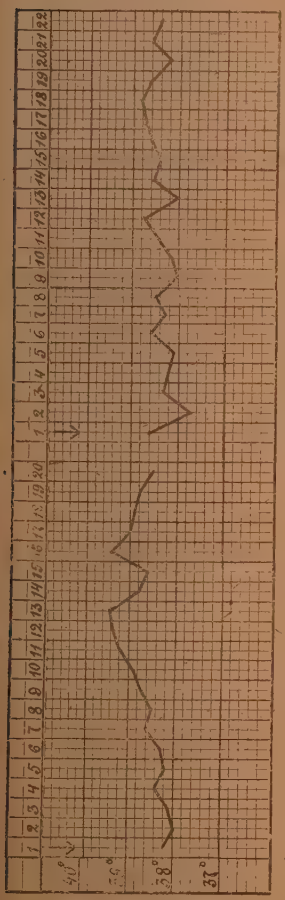


Doświadczenia nasze dają możność poznania odporności świnek względem powtórnego zakażania jadem duru plamistego. Podajemy wy-

kresy krzywych ciepłoty 3 świnek (świnki Nr. 14, 51, 54), które po pierwszem szczepieniu (pr. tabl. VI XII i XIII) przeszły typowę dla duru plamistego gorączkę, a po upływie 6 tygodni do 3 miesięcy okazały się odpornemi.

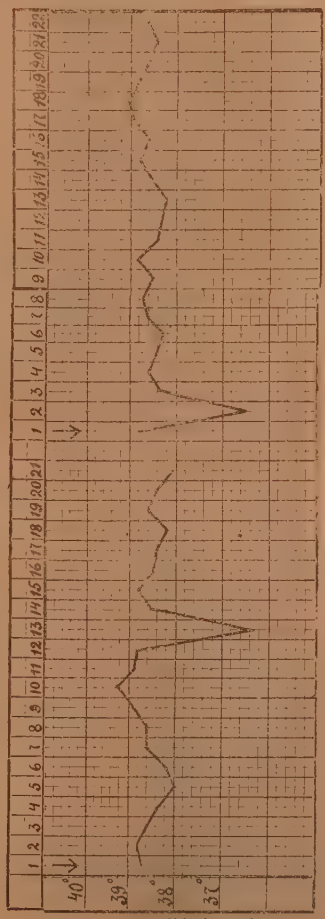
TABLICA XIV.

Świnka Nr. 49, zakażona mózgiem świnki Nr. 45 (0,4 do otrzewnej) — przebieg gorączki nietypowy. Świnka pozostaje odporna na ponowne zakażenie.



TABLICA XV.

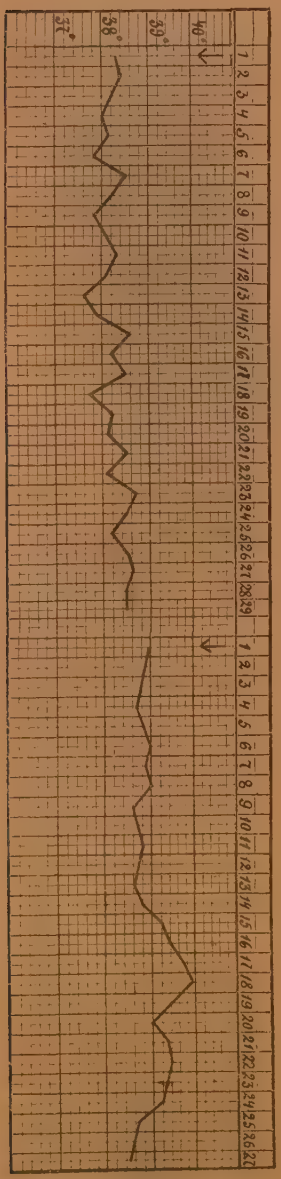
Świnka Nr. 53, zakażona mózgiem świnki Nr. 50 (0,4 do otrzewnej) — przebieg choroby nietypowy. Po trzech miesiącach zakażona powtórnie mózgiem św. Nr. 72 — odporna.



Jak widzimy z krzywych, świnki nabywają odporności również po nietypowym durze plamistym z długim okresem wylęgania i krótko trwającą gorączką (patrz wyżej tabl. VIII, św. Nr. 24), o krzywej z wahaniami i nieznacznem podniesieniem ciepłoty (Świnki Nr. 49 i 53).

TABLICA XVI.

Świnka Nr. 67, zakażona mózgiem świnki Nr. 62 (0,25 do otrzewnej) — nie zachorowała. Po 6 tygodniach, zakażona powtórnie mózgiem świnki Nr. 66, przeszła dur poronny.



Z 4 świnek, które po jednokrotnem szczepieniu wcale nie zachorowały, jedna dała, w 15 dni po wtórnem zakażeniu, nie znaczne podniesienie ciepłoty o 0,6° (*forme abortive*, świnka Nr. 67).

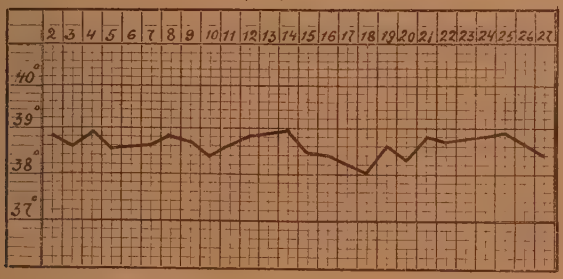
Poza przytoczonemi krzywemi mieliśmy jeszcze dwie o przebiegu odmiennym. Nie podajemy ich jednak, ponieważ materjał, użyty do pierwszego szczepienia, pochodził od świnek z infekcją wtórną. Te dwie świnki (Nr. 36 i 52), zaszczepione po raz pierwszy materjałem zanieczyszczonym, po upływie 3—5 miesięcy zakażono ponownie; obie zachorowały. W sumie ogólnej, z 8 prób na odporność otrzymaliśmy dwie ujemne, 6 dodatnich. Możemy więc powiedzieć, że dur plamisty, niezależnie od nasilenia i przebiegu choroby uodparnia świnki morskie.

Wrażliwość świnek morskich w stosunku do jadu duru plamistego ludzkiego (krwi chorego) jest słabszą, niż w stosunku do jadu laboratoryjnego. Według *Anderson'a* 44% świnek morskich nie podlega zakażeniu krwią ludzką, a tylko 4,7% zachowuje się odpornie podczas stosowania jadu laboratoryjnego. Odsetek tej kategorji według *da Rocha-Limy* wynosi 10 — 20%. Odporność t może być czasową i ustępuje podczas po wtórnych prób zakażania większemi dawkami jadu zjadliwego. W doświadczeniach *Weila* i *Felixa*, obejmujących kilkase świnek, wszystkie bez wyjątku reagowały typowem podniesieniem ciepłoty. Zdaniem *Weila* i *Felixa* nie spotyka się świnek odpornych na dur plamisty.

Z 7 świnek, zakażonych krwią chorych w naszem laboratorjum, zachorowały tylko 2. Na zasadzie tych prób odsetek świnek, niewrażliwych na krew chorego zdaje się być jeszcze większym, niż według *Anderson'a*. W przebiegu pracy, z 50 świnek, wrażliwych na jad laboratoryjny tylko 4 okazały się niewrażliwe. Tym samym mózgiem, którym były szczepione świnki niewrażliwe, zakażono inne — i te zachorowały typowo (św. Nr. 83 i 84).

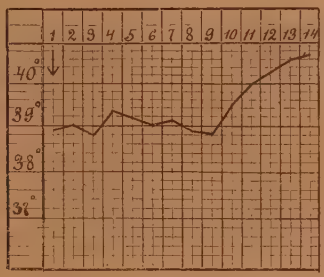
TABLICA XVII.

Świnka Nr. 83, zakażona mózgiem świnki Nr. 76 (0,3 do otrzewnej)—nie zachorowała.



TABLICA XVIII.

Świnka Nr. 84, zakażona mózgiem świnki Nr. 76 (0,3 do otrzewnej) — zachorowała typowo.



Według tych danych, około 7-8% świnek jest niewrażliwych na jednokrotne zakażenie jadem pasaży. Powtórnych prób na tych świnkach nie dokonano wskutek nagłej przerwy w pracy.

Z innych zwierząt, używanych do doświadczeń nad durem plamistym, małpy są więcej wrażliwe na dur plamisty, niż świnki i mniej wrażliwe, niż człowiek. Według *Nicolle'a* podskórne wstrzykiwanie krwi chorego, zazwyczaj skuteczne u człowieka, u małp często chybia. Dawka, zakażajaca człowieka, jest dostateczną dla zakażenia małpy, jednak tylko przy wstrzykiwaniu do otrzewnej. Z małp jedynie szympansy można łatwo zakażać podskórnie. Zazwyczaj rozporządzamy w pracowni małpami z gatunku Macacus sinicus, Macacus cynomolgus, Macacus rhesus. Mac. rhesus jest mniej odpowiedni ze względu na znaczny odsetek jednostek odpornych (25%). Małpy chorują na dur plamisty na skutek szczepienia jadem, pobranym bezpośrednio od człowieka (z krwią chorego), zarówno jak i jadem pasaży (zawiesiną mózgu świnki morskiej).

Wrażliwość człowieka na jad duru plamistego zależy od zjadliwości i ilości zarazka, a także od sumy indywidualnych właściwości danego organizmu. Zjadliwość zarazka może się wahać w szerokich granicach. Podczas

gdy łagodna forma duru plamistego w Ameryce (choroba *Brylla*) daje o 0,5 do 1% śmiertelności, dur plamisty w Serbji, w roku 1915, dawał śmiertel ność 60 — 80% (*Gitshlicht*). Spostrzeżenia z lat ubiegłych wskazują, ż z osób, przez czas dłuższy narażonych na zakażenie się durem plami stym (lekarzy, pielęgniarek), a niektóre na chorobę tę nie zapadają (*Złoto gorow*); inne znów bardzo szybko w tych samych warunkach podlegają za każeniu. Jednak, na podstawie spostrzeżeń *Jurgens'a* (w obozach dla jeń ców) i obfitych danych z epidemij lat ostatnich na wschodzie, sądzić należy że niema jednostek zupełnie niewrażliwych na zarazek duru plamistego w odpowiednich warunkach każdy człowiek podlega zakażeniu.

Wrażliwość ludzi na zakażenie doświadczalne krwią chorych nie jes zupełna. W 1915 r., w armji tureckiej, z 310 ludzi, sztucznie zakażonych krwią chorych, zachorowało 56%, a 44% było niewrażliwych. Ten znaczn procent osób niewrażliwych został prawdopodobnie spowodowany tem że w wielu przypadkach upłynęło dość dużo czasu od chwili pobrani krwi do chwili zakażenia. Pojedyńcze próby zakażenia ludzi krwią choryc także nie dają stałych wyników. *Moczutkowski* (1876 r.) zakaził się krwi chorego i zachorował. *Otero* (Meksyk 1907 r.) zakaził 4 osoby, z których tylko jedna, szczepiona krwią dożylnie, zachorowała. *Yersin* i *Wassa* (1908, Indochiny) zakazili 2 osoby — obie zachorowały.

Stwierdzono, że mniej więcej stałą wrażliwość posiadają, prócz czło wieka, świnki morskie, małpy, króliki i szczury. Nie dało się zakazi durem plamistym psa, świni, krowy, osła (*Gavino* i *Gérara*), myszy, konia barana, kozy, koguta (*Nicolle*). Szczur i król na zakażenie durem plamistym podniesieniem ciepłoty nie reagują, lecz, po okresie wylęgania, odpowia dającym takiemuż okresowi u świnek (*Nicolle*), krew i narządy tych zwierząt stają się zakaźne dla świnek morskich; powodują one zwykłe objawy duru plamistego laboratoryjnego, podobny do występującego przy zakażeniu jade t pasaży, pochodzącym od świnki. Jad rozwija się w ustroju króla i szczura nie wywołując objawów chorobowych. Zjawisko to jest jednym z przykła dów *Infection inapparente*. Dokonaliśmy prób na 3 szczurach. Szczury Nr. i 2 zostały zakażone mózgiem świnki 18-go pasażu, zabitej w 8-ym dniu choroby, po 0,25 do otrzewnej. Po upływie 14 i 16 dni zawiesiną mózgu (0,3 gr.) i krwią szczura (1,5 cm.^{3}) zakażono 2 świnki. Zadna z nich, w ciągu 28 dni, jakiegokolwiek wahania ciepłoty nie wykazała. Przypuszczając, i ujemny wynik mógł być spowodowany dłuższym okresem wylęgania u szczu rów, niż u świnek, wykonano próbę następującą: zakażono nowego szczura (Nr. 3) mózgiem świnki 20 pasażu do otrzewnej (0,3 gr.); po 25 dniach mózgiem tego szczura zakażono 2 świnki. Obie zachorowały typowo (patrz tabl. XIX i XX).

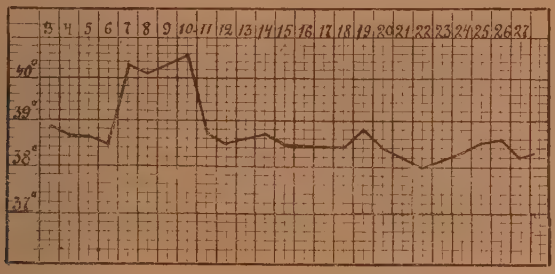
Ogółem, z 4 prób zakażania świnek mózgiem zakażonego szczura 2 wypadły dodatnio, 2 ujemnie.

Nicolle'owi udawało się zakażać durem plamistym króliki tylko przy dożylnem wstrzykiwaniu zawiesiny organów. Wylęganie trwa, według *Ni colle'a*, 33 - 34 dni, króliki gorączkują typowo, a krew ich staje się zakaźn dla świnek. W jednym z przypadków dokonano pasażu z królika na królika Dane te nie są zgodne z wynikami późniejszych badań *Weila*, *Felix*

moich własnych. Reakcję na zakażenie durem plamistym u króli można yło stwierdzić zawsze drogą badania serologicznego na odczyn zlepny prątkami odmieńca X_{19}. W doświadczeniach moich odczyn ten wystąpił 10 z 11 króli szczepionych w 8 10 i 14 dniu po zakażeniu. *Weil* i *Felix* każdym wypadku szczepienia króli durem plamistym obserwowali do- atni odczyn zlepny. Podniesienie ciepłoty ciała u króli w tych szczepie- iach nie następowało. Co prawda, króle zakażane były jedynie przez wstrzy- iwanie zawiesiny mózgu świnki do otrzewnej, a nie dożylnie, jak czynił to *Nicolle* i temperatura była mierzona zaledwie przez 33—35 dni.

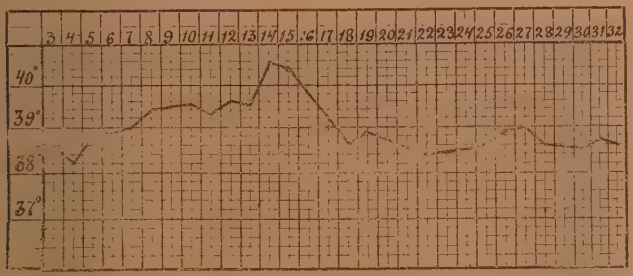
TABLICA XIX.

winka Nr. 98, zakażona mózgiem szczura. Po 6 dniach temperatura podniosła ę odrazu, po 4 dniach krytycznie spadła i pozostawała na poziomie normalnym przez następne 3 tygodnie.



TABLICA XX.

winka Nr. 99, zakażona mózgiem szczura. Po 7 dniach gorączka przez 8 dni, na stępnie temperatura normalna.



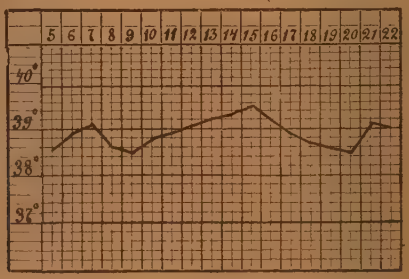
Odczyn zlepny *Weila-Felixa* u człowieka, chorego na dur plamisty, st objawem bardziej stałym, niż podniesienie ciepłoty; odczyn ten u króla ystępuje po zakażeniu w okresie nieco wcześniejszym, niż u człowieka. óźnica w czasie zależeć może od krótszego okresu wylęgania po zaka- eniu jadem pasaży, w porównaniu z zakażeniem drogą zwykłą przez uką- enie wszy. Sądzić należy, że odczyn *Weila-Felixa* u króli, tak samo jak człowieka, jest objawem duru plamistego. Według naszych danych, okresie 33—34 dni po wstrzyknięciu, kiedy zdaniem *Nicolle'a* króle

zachorowują na dur plamisty, odczyn *Weila-Felixa* już się znacznie osłabia Gdyby zdanie *Nicolle'a* było słuszne, wówczas odczyn *Weila-Felixa* u króli występując niezależnie od choroby i znacznie ją poprzedzając, miałb całkiem odmienne znaczenie, niż u człowieka.

Próby zakażenia świnek mózgiem króli, zakażonych durem plamistym dały następujące dodatnie wyniki: królik (Nr. 30), zakażony mózgiem śwink 20-ego pasażu (0,3 do otrzewnej), w ciągu 25 dni nie gorączkował. Ju w 10-ym dniu po zakażeniu dodatni odczyn *Weila-Felixa* podniósł się z 1:4 na 1:320 i pozostawał na tej wysokości do 25-ego dnia, kiedy królik zosta zabity. Zawiesiną jego mózgu (po 0,3 gr.) zakażono świnki, które przeszł dur plamisty.

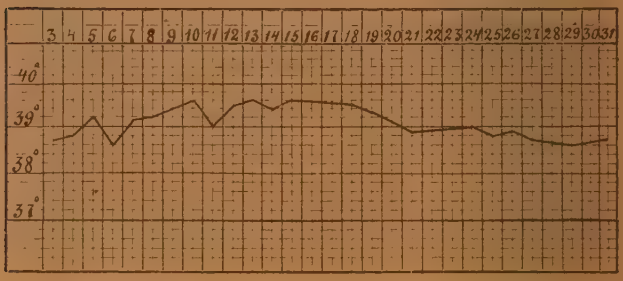
TABLICA XXI.

Królik Nr. 30, zakażony mózgiem świnki chorej, na dur plamisty — nie zachorowa



TABLICA XXII.

Świnka Nr. 95, zakażona mózgiem króla Nr. 30, zachorowała.



Reasumując dane powyższe, dotyczące wrażliwości na dur plamist rozmaitych zwierząt, powiedzieć możemy, że chorują, t. zn. gorączkują tracą na wadze i t. d , tylko ludzie, małpy i świnki. Króle i szczury nie cho rują, lecz zarazek w nich się rozwija, a obecność jego można stwierdzić dro gą badań serologicznych i dalszych doświadczeń nad zwierzętami. Wrażli wość człowieka, małpy, świnki i króla jest stałą, lecz siły niejednakowej. W du rze plamistym u ludzi przeważają objawy zatrucia; zwierzęta na te toksyn

prawie nie reagują i przebieg choroby przybiera u nich odmienny, łagodny charakter. Jak powiedzieliśmy, niema niewrażliwych ludzi, tak samo prawdopodobnie niema zupełnie niewrażliwych świnek i króli. Przypuszczać należy, że jad duru plamistego może się rozwijać i w innych zwierzętach, co do których odpowiednie próby dokonane jeszcze nie były.

Stwierdzenie swoistości szczepu.

Szczep, używany do opisanych doświadczeń, jak już wspomnieliśmy, przeszedł w ciągu roku 23 pasaże przez świnki morskie, nie zmieniając przez cały czas zjadliwości swej dla tych zwierząt i zachowywał się, jak *virus fixe*. Nieliczne odchylenia od ogólnego typu krzywej widzimy zarówno na początku, jak i w końcu roku; zależały one prawdopodobnie od indywidualnych właściwości poszczególnych świnek. Używając stale do doświadczeń świnek i króli, nie zauważyliśmy, aby szczep nasz podlegał jakiejkolwiek zmienności. W przebiegu dalszych doświadczeń, aby stwierdzić zjadliwość naszego szczepu dla małp, zaszczepiliśmy zawiesiną mózgu świnek, chorych na dur plamisty (17-go i 18-go pasażu), dwie małpy (*Macacus sinicus*).

Ciepłota małp, mierzona w ciągu 4 tygodni, nie wykazała zwyżki, odpowiadającej durowi plamistemu. Ogólny stan małp był dobry, apetytu nie utraciły, napięcie mięśni było normalne, waga ciała pozostała bez zmiany. Odczyn *Weila-Felixa*, dodatni przed szczepieniem, w rozcieńczeniu 1 : 40—1 : 80 (aglutynoskop), pozostał w ciągu 4 tygodni bez zmiany. Po upływie 2 miesięcy małpy zakażono powtórnie, tym razem odwłóknioną krwią ludzi, chorych na dur plamisty, pobraną w okresie wysypkowym. Krew, w ilości 5 ccm zastrzyknięto do otrzewnej. Dalsze obserwacje w ciągu miesiąca jakichkolwiek wahań ciepłoty ciała nie wykazały, a odczyn *Weila-Felixa* nie zmienił swego miana (Patrz tabl. XXXIII).

Nieoczekiwane wyniki tych doświadczeń nasunęły przypuszczenie, że użyty szczep duru plamistego (mózg świnki morskiej), stale zjadliwy dla świnki, utracił swą zjadliwość dla małp i że ten osłabiony szczep, nie wywołując zachorzenia, może uodpornić małpę przeciwko zakażeniu jadem, pochodzącym bezpośrednio od człowieka.

Powstała również kwestja, czy mamy do czynienia ze szczepem duru plamistego. Wyżej opisany przebieg choroby u świnek morskich, zjawiska odporności, swoiste schorzenia drobnych naczyń mózgowych i t. d. najzupełniej odpowiadają analogicznym danym innych badaczy, dotyczącym duru plamistego u świnek i lekkiej formy duru plamistego u ludzi. Niewątpliwie mieliśmy do czynienia, tak samo, jak *Doerr, Nicolle, Weil i inni*, ze szczepem duru plamistego. Powstało jednak pytanie, czy zarazek duru plamistego w świnkach pozostaje tem, czem był w człowieku, czy nie ulega zasadniczym zmianom, czy nie utraca swej zjadliwości dla człowieka, przystosowując się do organizmu odmiennego, stając się *virus fixe* dla świnki morskiej.

Gdy przenosimy jad człowieka na świnkę, spotykamy pewne trudności, musimy stosować stosunkowo ogromne dawki (3 — 5 cm^3), zaka-

żenie nie zawsze się udaje, świnki reagują po długim okresie wylęgania znacznie słabiej, niż na jad pasaży. Czy, przenosząc jad z powrotem ze świnki na człowieka, nie spotkamy się z tym samym zjawiskiem osłabienia zjadliwości, tembardziej że już małpy (bardziej zbliżone do człowieka, niż świnki) w naszem doświadczeniu nie zachorowały? Zagadnienie to ma dla nas nietylko znaczenie akademickie, ale, wobec grożącej nam ze Wschodu epidemji, staje się aktualnem. Problemat imunizacji w przebiegu badań naukowych wysuwa się na pierwszy plan. Już to, że świnki zakażone nie dają odczynu *Feila-Welixa*, że u króli, u których ten odczyn otrzymujemy, miano surowicy jest wielokrotnie niższe, niż u człowieka chorego, nasuwa pewne przypuszczenia co do zmienności jadu, tembardziej, że wysokość odczynu u człowieka nie zależy od ciężkości choroby, a w przypadkach poronnych odczyn ten jest najpewniejszym wskaźnikiem dla djagnozy duru plamistego. Kwestja zjadliwości jadu laboratoryjnego dla człowieka zajmowała szereg badaczy, lecz tylko teoretycznie. Niektórzy (*Friedberger*) z góry wykluczali możność zakażenia człowieka jadem pasaży.

TABLICA XXIII.

Macacus sinicus, zakażony mózgiem świnki Nr. 62 (0,6 do otrzewnej) — nie zachorował. Po dwuch miesiącach zakażony krwią chorego (5 cm.³ do otrzewnej) — okazał się odpornym.

Wyniki wyżej opisanych doświadczeń zachęciły mię do wypróbowania zjadliwości laboratoryjnego jadu duru plamistego na człowieku. W tym celu zastrzyknęłam sobie pod skórę 0,3 gr. mózgu świnki morskiej 22-go pasażu, zabitej w 5-ym dniu choroby.

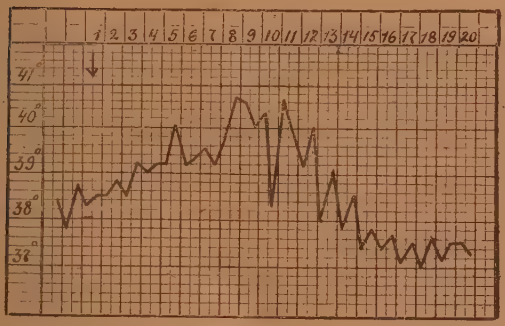
Reakcja ogólna bezpośrednio nie wystąpiła. Miejscowe niewielkie obrzmienie, nieco bolesne przy ucisku, pozostało przez 3 tygodnie. W 20 godzin po zastrzyknięciu mózgu wprowadzono pod skórę 10 ccm inaktywowanej surowicy ozdrowieńca po durze plamistym. Po upływie 10 dni nastąpiło nieznaczne podniesienie się ciepłoty, bóle głowy, bóle mięśniowe, bezsenność, podniecenie.

Na 3-ci dzień choroby ciepłota podniosła się do 38.3°, tętno do 90. Na 5-ty dzień wystąpiła drobniutka wysypka, znikająca pod uciskiem, na piersiach, plecach i brzuchu i bardzo niewyraźna na kończynach górnych. Następnego dnia wystąpiła wysypka znacznie wyraźniejsza na stronie zginaczy kończyn górnych. Wysypka ta, nieobfita

i dość blada, utrzymywała się w ciągu tygodnia, nie przechodząc nigdzie w wybroczyny.

TABLICA XXIV.

Dur plamisty u Dr. H. Sparrow.



Ciepłota w ciągu 8, 9, 10 i 11 dnia choroby osiągnęła wysokość powyżej 39°, poczem, w ciągu trzech dni, spadła litycznie. Tętno przez cały czas choroby przeważnie poniżej 90 uderzeń na minutę; jedynie w dniach największego nasilenia choroby tętno osiągnęło około 100 uderzeń, przyczem stale było miarowe, równe, o napięciu obniżonem. Nieznaczne powiększenie śledziony można było stwierdzić w 6-ym dniu choroby.

Odczyn *Weila-Felixa*, w 4-ym i 6-ym dniu choroby ujemny, w 9-ym dodatni, jeszcze w rozcieńczeniu surowicy 1 : 6400; posiew krwi z wynikiem ujemnym.

W 15 dni po spadku ciepłoty miano zlepne surowicy zachowywało swą siłę 7-ego dnia choroby chora została przeniesiona do Szpitala Wojskowego przy ul. Pokornej. Rozpoznanie kliniczne duru plamistego stwierdzone zostało przez lekarzy szpitala. Po spadku ciepłoty nastąpił szybki powrót do zdrowia. 14-dniowy okres gorączkowy, wysypka, dodatni odczyn *Weila-Felixa* w wysokiem rozcieńczeniu surowicy, a także histologiczne właściwości różyczki dowodzą, że przypadek ten zaliczać należy do zupełnie typowych form duru plamistego. Doświadczenie opisane dowodzi, że:

1) choroba świnek, szczepionych krwią ludzi, chorych na dur plamisty, jest rzeczywiście durem plamistym,

2) szczep w ciągu roku, przeszczepiany przez świnki 22 razy, zachował w świnkach swą zjadliwość dla ludzi.

Przypadków zakażenia ludzi jadem pasaży dotychczas nie opisywano.

DONIESIENIE DRUGIE.

Odczyn Weila-Felixa u króli, szczepionych jadem duru plamistego.

U zwierząt, szczepionych jadem duru plamistego, nie można było wykazać przez czas dłuższy objawu najbardziej stałego w chorobie tej u ludzi, mianowicie odczynu *Weila-Felixa*. Surowica świnek morskich, zwierząt zawsze wrażliwych na dur plamisty, w przebiegu choroby nie nabywa własności zlepnych względem szczepu odmieńca X_{19}. Normalne, bardzo niskie miano zlepne tej surowicy wynosi zaledwie 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20 i nie wzmaga się pod wpływem zakażenia durem plamistym.

Otto i *Winkler* u świnek, zabitych podczas choroby, a szczepionych wielokrotnie zawiesiną mózgu chorych na dur plamisty, otrzymywali aglutynację najwyżej w rozcieńczeniu 1 : 10, 1 : 20, *Doerr* w rozcieńczeniu 1 : 20. Brak odczynu W.-F. u świnek, zakażonych jadem duru plamistego, nie dałby się wytłumaczyć małą zdolnością świnek do wytwarzania przeciwciał. Świnki, szczepione zawiesiną odmieńca X_{19} do otrzewnej, wytwarzają aglutyniny swoiste w znacznej ilości, chociaż zawsze w ilości mniejszej, niż w tych samych warunkach otrzymujemy je u królika. Surowic małp, zakażonych durem plamistym, na odczyn zlepny nie badano wcale (o ile mogę sądzić z dostępnej mi literatury). Badano natomiast w tym kierunku surowice zwierząt hiperimunizowanych. Tak więc, *Otto* i *Winkler* stwierdzili u barana, uodpornionego wielokrotnem wstrzykiwaniem jadu duru plamistego, odczyn *W.-F.* w rozcieńczeniu 1 : 25 i 1 : 50. *Russ* i *Kirschner*, badając surowicę kozy uodpornionej, znaleźli mniej aglutynin względem szczepu X_{19}, niż u kozy normalnej. Ściśle mówiąc, wszelkie poszukiwania odczynu W.-F. u zwierząt, zakażonych durem plamistym, dokonywane w ciągu ostatnich kilku lat, wypadały ujemnie.

Przez pewien czas panowało też w nauce zdanie, że aglutyniny dla odmieńca X_{19}, wytwarzane w organizmie ludzi, chorych na dur plamisty, nie powstają pod wpływem jadu duru plamistego, a wytwarzają się jedynie pośrednio, w związku ze specyficznemi właściwościami organizmu ludzkiego. Opinja rozmaitych autorów różnie ten odczyn zlepny określa: jako współaglutynację, wzmożoną normalną aglutynację, aglutynację wskutek wtórnej infekcji prątkami odmieńca i t. d.

Zasadnicza zmiana w tych poglądach musiała nastąpić z końcem roku 1920 r, kiedy *Weil-Felix* ogłosili prace, w których, na zasadzie licznych doświadczeń, dowiedli, że odczyn zlepny z prątkami odmieńca X_{19} występuje stale u króli, szczepionych zawiesiną mózgu świnki, chorej na dur plamisty i zabitej w okresie największego nasilenia choroby. Odczyn ten zdaniem autorów, jest jedynym objawem zakażenia organizmu królika jadem duru plamistego.

Aglutyniny dla szczepów odmieńca X_{19} występują w surowicy króli po upływie 8—10 dni od chwili zakażenia; w największej ilości stwierdzamy

je w okresie dnia 14-ego. Okres 8—10—14 dniowy odpowiada okresowi nasilenia duru plamistego u świnek i u małp po zakażeniu zawiesiną mózgu albo innych organów (jadem pasaży). Po upływie 4—6 tygodni odczyn zlepny u króli stopniowo zanika. Ponowne wstrzykiwania wzmożonych dawek jadu, zjadliwego dla świnek, nie powodują u króli wzmożenia się aglutynin.

Zdaniem *Weila* i *Felixa* w organizmie króla, zakażonego wstrzykiwaniem jadu duru plamistegu, wytwarza się odporność tak samo, jak u świnek morskich. Zarazek duru plamistego, wprowadzony ponownie do organizmu uodpornionego, nie może się w nim rozwijać i nie wytwarza aglutynin. Ilość zarazków w zawiesinie mózgu, przy największych nawet dawkach, nigdy nie bywa dostateczną, aby zarazki te mogły spowodować, same przez się, bez rozmnożenia się, wystąpienie ciał zlepnych. Stwierdzają to samo *Weil* i *Felix*, wstrzykując zawiesinę mózgu, ogrzewaną w ciągu pół godziny do 58°. Ogrzewanie zabija zarazek, a antygenu nie niszczy: ilość antygenu w zawiesinie jest jednak niedostateczna, aby w organizmie króla wywołać odczyn zlepny. Po wprowadzeniu do ustroju nieogrzanej zawiesiny mózgu, chociażby w minimalnej ilości 0,001, zarazek duru plamistego rozmnaża się i po pewnym czasie aglutyniny się wytwarzają. Stąd wniosek, że przeszkodą do otrzymania odczynu W.-*F.* u króli może być: odporność organizmu (zakażenie ponowne) i niezdolność jadu do rozmnażania się (jad ogrzany). *Weil* i *Felix* stwierdzają dalej, że zawiesina mózgu świnki normalnej nie wytwarza w organizmie króla aglutynin dla prątków X_{19} i że u króli, szczepionych durem plamistym, ilość normalnych aglutynin dla rozmaitych, łatwo aglutynujących się szczepów, nie wzmaga się — dowodzi to swoistości odczynów zlepnych z X_{19}.

U króli, tak samo jak u człowieka, miano aglutynacyjne surowicy dla typu OX_{19} jest znacznie wyższe, niż dla typu HX_{19}, a charakter aglutynacji jest stale drobno grudkowaty. Najwyższe miano aglutynacyjne surowicy króli, szczepionych durem plamistym, rzadko wynosi 1:50, znacznie częściej jest wyższe, 1 : 100, 1 : 500, i dochodzi czasami do 1 : 1000 i 1 : 2000, zawsze jednak pozostaje niższe, niż u człowieka, chorego na dur plamisty.

Powyżej przytoczone dane *Weila* i *Felixa* potwierdza *Kuczyński* i *Eisenberg*, a poniekąd *Otto* i *Winkler*. *Otto* i *Winkler* u połowy króli szczepionych otrzymali odczyn dodatni, w rozcieńczeniach nie wyżej 1:40—1:80. *Russ*, *Kirschner* i *Doerr* wyników *Weila-Felixa* nie potwierdzają. *Kraus* i *de la Barera*, u nieznacznej części badanych królików, otrzymali dodatni odczyn *W.-F.* w rozcieńczeniu surowicy 1:100.

Do naszych badań użyliśmy szczepu duru plamistego pochodzenia ludzkiego, przeprowadzonego przez świnki morskie, z 17-ego i 21-ego pasażu. Szczep ten był zupełnie stały: okres wylęgania wahaniom nie podlegał, krzywe temperatury były typowe, świnki po chorobie nabywały odporności, a zmiany naczyniowe w mózgu stwierdzono w każdym badanym przypadku.

Technika badań polegała na wstrzykiwaniu królom do otrzewnej zawiesiny mózgu świnki morskiej, zabitej w okresie nasilenia choroby. Zawiesinę przygotowywano w soli fizjologicznej i wstrzykiwano do otrzewnej w ilości 1—2 cm^3; zawierała ona 0,3—0,5 gr. substancji mózgu. Surowica

króli pobierana była zazwyczaj przed wstrzykiwaniem i co 3 dni po wstrzykiwaniu. Do próby aglutynacji służyły szczepy odmieńca OX_{19}, HX_{19}, prątków tyfusu i paratyfusu. Surowicę króliczą używano w rozcieńczeniu od 1:5 do 1:640 i wyżej; do rozcieńczeń dodawano w równej ilości zawiesiny bakteryj. Wyniki odczytywano po 18 godzinach, w temperaturze pokojowej, pod aglutynoskopem. Właściwości zlepne zależą, jak wiadomo, w znacznej mierze, od jakości pożywki. Aby możliwie uniknąć wahań w właściwościach zlepnych szczepów, próby aglutynacyjne wykonywane były co 2 tygodnie, równocześnie ze szczepami, hodowanemi na agarze skośnym jednej serji, a surowice pobierane były systematycznie i przechowywane w lodówce.

Pierwsza serja obejmuje badania nad własnościami zlepnemi surowic króli normalnych, przed wstrzykiwaniem im zawiesiny mózgu. Badaliśmy na obecność aglutynin dla prątków OX_{19} i prątków tyfusu.

Z 20 badanych surowic otrzymaliśmy aglutynację.

Z e s z c z e p e m OX_{19}.			Z e s z c z e p e m prątków d u r o w y c h.	
Rozcieńczenie surow.	Ilość króli.	Odsetek.	Ilość króli	Odsetek.
0	8	40%	3	15%
1:10	7	35%	2	10%
1:20	4	20%	1	5%
1:40	1	5%	5	25%
1:80	—	—	5	25%
1:160	—	—	2	10%
1:320	—	—	2	10%

Naogół surowica królicza normalna aglutynuje znacznie silniej prątki tyfusowe, niż prątki OX_{19}. W 75% prątki X_{19} aglutynują się tylko w rozcieńczeniu nie przewyższającem 1:10. Prawie połowa badanych surowic nie zawierała aglutynin dla X_{19}. Surowice króli, szczepionych do otrzewnej zawiesiną mózgu świnki normalnej, badane po upływie 7, 14 i 21 dni, zachowywały się jak surowice króli normalnych.

Przejdziemy obecnie do badań nad królikami, szczepionemi jadem duru plamistego (Patrz tabl. I-a str. 191).

Sześciu królikom wstrzyknięto do otrzewnej po 0,3 gr. mózgu świnki morskiej, chorej na dur plamisty. Miano aglutynacyjne tych surowic, w porównaniu z przeciętną miana aglutynacyjnego surowic normalnych, wskazuje, że na 6 króli tylko 1 nie dał dodatniego odczynu W.-F. (Nr. 17). U reszty dodatnia aglutynacja ze szczepem X_{19} występuje wyraźnie w 8-ym, 10-ym i 14-ym dniu po wstrzyknięciu; w 13—16 dniu surowice aglutynują najsilniej. Miano aglutynacyjne podnosi się od 0 do 1:10, 1:50, 1:60, 1:640. Iluść aglutynin dla prątków durowych jednocześnie się wzmaga, lecz w słabszym stopniu.

TABLICA I.

Króle, szczepione zawiesiną mózgu świnek, chorych na d ur plamisty.

	Króle, szczepione 14/IX mózgiem świnki Nr. 59-ej do otrzewnej (0,3 gr.)						Króle, szczepione 29/IX mózgiem świnki Nr. 62 do otrzewnej (0,3 gr.)					
	Nr 14		Nr. 15		Nr. 16		Nr. 17		Nr. 20		Nr. 19	
Data	OX_{19}	Ty	OX_{19}	Ty	OX_{19}	Ty	OX_{19}	Ty	OX_{19}	Ty	OX_{19}	Ty
19/IX	—	—	—	160	10	—	—	—	—	—	—	—
22/IX	10 +—	40	20	—	80	40	—	—	—	—	—	—
24/IX	10	160	100	10	200	160	—	—	10 +—	10	—	—
27/IX	50	80	160	20	640	640	10 +—	—	—	—	—	—
30/IX	20	320	40	—	320	160	—	—	—	—	—	—
3/X	—	80	40	—	320	160	20	40	—	—	10	10
6/X	—	80	40	—	80	80	—	—	—	—	—	—
10/X	—	80	40	320	80	80	—	—	—	—	—	40
13/X	20	80	40	40	80	80	10	40	40	40	160	80
17/X	—	80	—	—	80	160	—	—	20	—	—	—
20/X	20	20	—	—	80	40	—	—	—	—	80	80

Liczby oznaczają najwyższe rozcieńczenia surowic, w jakich odczyn zlepny był wyraźny; — oznacza odczyn ujemny.

TABLICA II.

Króle, zaszczepione toksynami czerwonki i nieszczepione durem plamistym.

Data	Nr. 18		Nr. 19		Nr. 22		Nr 23		Nr. 24		Nr. 25	
	OX_{19}	Ty	OX_{19}	Ty	OX_{19}	Ty	OX_{19}	Ty	OX_{19}	Ty	OX_{19}	Ty
24/IX	10	80	10	—					—	—		
27/X	10	220	20	20					20	20		
30/X	20	—	—	—	10		20	—	—	—		
3/X	20	160	—	—	—	80	40	—	—	—		
6/X	10	80	—	—	—	320	40	—	—	—		
10/X	—	320	—	—	—	320	80	320	—	320		
13/X	20	320	10	20	—	320	80	20	—	20	40	80
17/X	10	80	—	—	10	320	80	10	—	80	—	320
20/X	—	40	—	10	—	320	80	—	—	—	—	160

To wzmożenie się aglutynin dla prątków durowych zaprzecza wynikom, otrzymanym przez *Weila* i *Felixa*, którzy badali własności zlepne surowic króli, szczepionych zawiesiną świnki morskiej, chorej na dur plamisty z 12-oma rozmaitemi szczepami, a w tej liczbie z prątkami duru i paradurów A i B, i najmniejszego wzmożenia aglutynin dla tych szczepów nie stwierdzili. Aby sprawdzić, czy ilość aglutynin dla X_{19} może się wzmagać pod wpływem czynników nieswoistych, tak, jak wzmagają się aglutyniny dla pr. tyfusowych (pr. tablica I-a), badane były systematycznie surowice 6 króli, szczepionych poprzednio toksynami czerwonki (Patrz tabl. II). Badania były rozpoczynane wkrótce po ustąpieniu objawów chorobowych.

Miano aglutynacyjne surowic tych króli, nieszczepionych durem plamistym, waha się od 0 do 0 : 20 dla pr. $0X_{19}$ i tylko u króla Nr. 23 dochodzi do wysokości 1 : 80. Miano aglutynacyjne dla pr. durowych waha się bardzo znacznie, niezależnie od miana OX_{19}.

TABLICA III.

Króle, szczepione durem plamistym.

Królik Nr. 31, zaszczepiony 1/XI zawiesiną mózgu świnki Nr. 72(0,3 gr.) do otrzew.						Królik Nr. 32 szczepiony 1/XI zawiesiną mózgu świnki Nr. 72 (0,3 gr.) do otrzew.				
Data	OX_{19}	HX_{19}	Ty.	P.A.	P.B.	OX_{19}	HX_{19}	Ty.	P.A.	P.B.
5/XI	20	—	40	40	40	—	—	80	80	80
8/XI	20	—	20	20	20	—	—	320	160	—
12/XI	160	20	20	20	20	40	20	160	160	80
15/XI	160	40	20	20	20	160	20	320	160	80
18/XI	80	20	20	20	20	40	—	520	320	320
23/XI	80	20	20	20	20	20	—	320	320	320
26/XI	320	20	160	80	160	80	40	320	320	320
30/XI	320	20	160	160	160	160	40	320	320	320
3/XII	160	20	20	80	80	160	40	320	320	320
6/XII	160	20	20	80	80	160	40	320	—	—
9/XII	160	20	20	160	80	80	20	320	320	320

Królik Nr. 31 — aglutyniny dla OX_{19} występują w 12 dniu; ilość ich zmniejsza się w 18 dniu. Miano aglutynacyjne surowicy podnosi się z 1 : 20 na 1 : 160. Aglutyniny dla pr. Ty., para A i para B. pozostają bez zmiany.

Królik Nr. 32 — aglutyniny dla pr. OX_{19} występują w 12 dniu; w 15 dniu jest ich najwięcej, w 18 ilość się zmniejsza. Aglutyniny dla pr. Ty, para A i para B także się nieco wzmagają, 2 — 4-krotnie. U obu królików aglutyniny OX_{19} zanikają w 18 dniu, a w 26 ponownie występują, u króla Nr. 31, nawet w większej, niż poprzednio, ilości. Ilość aglutynin dla OX_{19} wzmaga się 8 — 16 razy, dla HX_{19} pr. Ty, para A i para B — 4 razy.

TABLICA IV.

Królik Nr. 30, zaszczepiony 15/XI mózgiem świnki Nr. 76 (0,3 gr.) do otrzew.						Królik Nr. 33, zaszczepiony 15/XI mózgiem świnki Nr. 76 (0,3 gr.) do otrzew.				
Data	OX_{19}	HX_{19}	Ty.	P.A.	P.B.	OX_{19}	HX_{19}	Ty.	P.A.	P.B.
5/XI	40	20	40	40	320	20	20	160	160	80
8/XI	40		40	80	320	20	20	160	160	80
12/XI	40	20	40	40	320	20		160	160	160
15/XI	40		40	80	320	20		160	80	160
18/XI	40		40	20	320	20		160	80	80
23/XI	80	20	80	160	320	320	20	160	80	80
26/XI	320	80	160	80	320	320	40	320	160	160
30/XI	320	160			320	160	20	320	160	160
3/XII	320	160	80	80	320	80	—	320	160	160
6/XII	320	160	80	80	320	80	—	320	160	160
9/XII	320	160	80	80	320	80	20	320	160	160

Królik Nr. 30—surowica aglutynuje przed zakażeniem z pr. OX_{19} w rozcieńczeniu 1:40. W 8-ym dniu po szczepieniu miano aglutynacyjne surowicy podnosi się do 1:80, w 11-ym do 1:320 i pozostaje na tej wysokości przez 23 dni. Aglutyniny dla pr. T. jednocześnie się wzmagają, lecz w mniejszym stopniu.

Królik Nr. 33 — przed zakażeniem surowica aglutynuje z pr. OX_{19} w rozcieńczeniu 1 : 20, w 8-ym dniu miano aglutynacyjne podnosi się do 1 : 320 i pozostaje na tej wysokości przez 8 dni; poczynając od 16-go dnia, obniża się stopniowo. Aglutyniny dla pr. *Ty* wzmagają się nieznacznie; aglutyniny dla para A i para B są zmienne.

Królik Nr. 29 —.w 9 dni po zakażeniu odczyn *Weila-Felixa* dodatni, w rozcieńczeniu 1 : 4; w 12-ym dniu, w rozcieńczeniu 1 : 320. Następnie, w ciągu miesiąca odczyn waha się od 1 : 180 do 1 : 320. Miano aglutynacyjne dla pr. Ty., para A i para B podnosi się 2 — 4 krotnie, jednak dopiero po miesiącu od dnia zakażenia (Patrz tabl. V).

Zestawiając wyniki badań, poczynionych nad królikami, szczepionemi jadem duru plamistego, widzimy, że dodatni odczyn *W.-F.* wystąpił u 10 królików z 11 badanych w 8 — 14 dniu po szczepieniu; najwyższe miano surowic otrzymaliśmy w 12 — 15 dniu; następnie, odczyn obniżał się powoli, był widoczny jednak jeszcze po upływie miesiąca.

TABLICA V.

Królik Nr. 29, zakażony mózgiem świnki Nr. 70 do otrzewnej (0,5 gr.) dnia 29/X.

Data	OX_{19}	HX_{19}	Ty.	P.A.	P B.
26/X	—	—	20		
29/X	20	—			
5/XI	20	20	20	40	40
8/XI	40	20	20	40	40
12/XI	320	40	20	40	40
15/XI	320	40	20	40	40
18/XI	160	20	20	40	40
23/XI	80	20	20	40	20
26/XI	160	20	80	80	160
30/XI	80	20	40	—	40
3/XII	160	20	40	40	40
6/XII	320	20	40	40	40
9/XII	320	20	40	40	40

Rozcieńczenie surowicy	Ilość króli z dodatnim odczynem *W.-F.*	Ilość króli z dodatnią aglutynacją pr. durowych
1 : 40	1	2
1 : 50	1	—
1 : 80	—	2
1 : 160	3	2
1 : 320	4	4
1 : 640	1	1

Dodatni odczyn *W.-F.* w naszych doświadczeniach otrzymywaliśmy u 90% badanych króli, przytem u 70% w rozcieńczeniu surowicy 1 : 160 i 1 : 320.

Szczep odmieńca HX_{19} zlepiał się z surowicą króli również swoiście, lecz w znacznie niższych rozcieńczeniach. Miano aglutynacyjne surowic króli dla pr. OX_{19} wzmagało się po szczepieniu koło 16 razy, dla pr. durowych i paradurowych 4 razy. Takież wzmożenie się aglutynin dla pr. durowych znajdujemy u króli po szczepieniu toksynami czerwonki. Należy odnieść więc je na konto nieswoistego wzmożenia się aglutynin dla pr. durowych, których król normalny posiada znaczną ilość. Jednoczesne badania surowic tychże króli (po toksynach czerwonki) na obecność aglutynin dla pr. OX_{19} wzmożenia się tych aglutynin nie wykazały. Stąd wnio-

sek, że odczyn zlepny, otrzymany po szczepieniu zawiesiną mózgu, jest odczynem swoistym dla duru plamistego, a nie jedynie wzmożeniem się aglutynin normalnych. Jednoczesne wzmożenie się aglutynin dla pr. X_{19} i pr. durowych, po szczepieniu jadem duru plamistego, stwierdzają również *Doerr i Pick* i, właśnie ze względu na to zjawisko, nie przypisują swoistego znaczenia dodatniemu odczynowi *W.-F.*

W naszych doświadczeniach wzmożenie się aglutynin dla pr. X_{19}, w porównaniu z normą, było przeszło 4-krotnie większe, niż takież wzmożenie się dla pr durowych i nie następowało pod wpływem czynników nieswoistych, które na wzmożenie się aglutynin pr. durowych wpłynąć mogły. Niezgodność naszych wyników z wynikami *W.-F.*, co do wysokości miana surowic i wzmożenia się normalnych aglutynin, polega prawdopodobnie na indywidualnych właściwościach szczepów duru plamistego i używanych do aglutynacji szczepów bakteryj, a także na pewnych różnicach w przygotowaniu pożywek.

Wnioski:

1) 90% króli, szczepionych mózgiem świnki morskiej, chorej na dur plamisty, daje dodatni odczyn zlepny surowicy z odmieńcem OX_{19}, najczęściej w rozcieńczeniu 1 : 160 — 1 : 320.

2) Odczyn występuje w rozcieńczeniu znacznie wyższym z odmieńcem OX_{19}, niż z odmieńcem HX_{19}.

3) W surowicy króla jedocześnie się wzmaga ilość aglutynin dla pr. Ty i paratyfusowych. Wzmożenie to jest wielokrotnie słabsze, niż dla pr. X_{19}.

4) Aglutyniny dla pr. OX_{19} u króli, szczepionych toksyną czerwonki pozostają bez zmiany, a ilość aglutynin dla pr. durowych i paradurowych wzmaga się w takim samym stopniu, jak podczas szczepienia mózgiem świnki, chorej na dur plamisty.

5) Odczyn zlepny surowic króli, szczepionych jadem duru plamistego z pr. odmieńca OX_{19}, uważać można za odczyn swoisty duru plamistego, identyczny z odczynem *W.-F.* u ludzi chorych.

Aus dem Staatlichen Epidemjologischen Institut in Warschau.
(Director Dr. L. Rajchman).

Experimentelle Untersuchungen über das Fleckfiebervirus.

Dr. HELENE SPARROW.

I MITTEILUNG.

Das Fleckfieber bei Laboratoriumstiere.

Die vorliegende Mitteilung bildet ein Fragment der experimentellen Arbeit über Fleckfieber, welche im hiesigen Institute von mir seit einem Jahre geführt wird.

Das Fleckfieber-virus menschlicher Herkunft wurde an Meersschweinchen verimpft und erlang binnen eines Jahres 22 Passagen in ca. 100 Meerschweinchen. Die Tiere wurden auf der Höhe der Erkrankung (3 — 5 Tage des Fiebers) getötet, das Gehirn steril auspräpariert und in Form einer Emulsion (phys. Kochsalz)) gesunden Meerschweinchen intraperitonea injiziert (0,3 — 0,5 Hirnsubstanz in 1,0 — 0,2 Na Cl).

Kaninchen, welche mit virulenter Hirnemulsion i. p. geimpft wurden ergaben positive *Weil-Felix* Reaktion (bis 1 : 320) nach 8 — 14 Tagen. Auf Grund dieser Tatsachen und Befunde wurde die Späzifitet des Meerschweinchen-Virus festgestellt.

Der mikroskopische Sektionsbefund erwies jedesmal eine Hyperhämie der Bauchorgane, des Gehirns und der Hirnhäute, sowie ein Vergrösserung der Milz. Die inneren Organe wurden gleichzeitig mit jeder Virus-Passage einer histologischen Untersuchung unterworfen, wobei im Gehirn stets die bekannten und für das Fleckfieber spezifischen Gefäss-Veränderungen gefunden wurden.

Der klinische Verlauf des Fleckfiebers bei Meerschweinchen zeigte den üblichen Typus (Inkubationsdauer 5 — 10 Tage, Fieberzeit 6—10 Tage). Die Tiere blieben immun gegen eine wiederholte Impfung.

Im Laufe weiterer Versuche wurden zwei Affen (*Macaccus sinicus*) mit der Hirnemulsion der 17 u. 18 Passage i. p. geimpft, wonach sich beide gegenüber der Infektion refraktär verhielten. Die Temperatur täglich im Rectum gemessen, zeigte während 4 Wochen keine Erhöhung. Es sei bemerkt, dass gleichzeitig mit den Affen zwei Meerschweinchen geimpft wurden, welche typisch erkrankten. Aus diesem Resultat könnte man schliessen, das die Virulenz des Virus infolge Passagen so herabgesetzt worden ist, das die Dosis 0,5 für die Affen keine Krankheitssymptome hervorrief

Um festzustellen, ob diese Affen gegenüber Fleckfieber-Virus emfindlich geblieben sind, wurde ihnen nach Verlauf von 2 Monaten je 5 ccm. defibrinierten Blutes eines Fleckfieberkranken Menschen i. p. injiziert. Beide Affen blieben gesund. Aus diesem unerwarteten Resultat können wir schliessen, dass das abgeschwächte Meerschweinchen-Virus imstande war die Affen gegenüber ein Infection mit Menschen—Virus zu schützen.

Angeregt durch diese Versuche, habe ich mich entschlossen, die Virulenz des Meerschweinchen-Virus für den Menschen ausprobieren.

Zu diesem Zwecke habe ich mir 0,3 emulgierter Hirnsubstanz der 22-ten Passage subcutan injiziert (am 25.XII.1921). Am 10-ten Tage nach der Injektion erkrankte ich. Die klinischen Erscheinungen der Krankheit waren für Fleckfieber typisch: Fieber bis über 39°, charakteristisches Exanthem am 5-ten Tag, *Weil-Felix* Reaktion am 9-ten Tag 1 : 6400 (stamm OX_{19}). um 14-ten Tag Temperatur-Abfall. Der allgemeine Verlauf der der Krankheit war leicht.

Folgerungen:

1) Meerschweinchen, mit Fleckfieber-Virus menschlicher Herkunft geimpft, erkranken tatsächlich an Fleckfieber.

2) Der Virusstamm, im Laufe eines Jahres in Meerchweinchen gezüchtet, blieb für Menschen pathogen.

ERKLÄRUNGEN ZU DEN SCHEMATA UND KURVEN.

1. Schema der Passagen des Fleckfieber-Virus in Meerschweinchen v. 26.I 1921—15.XII. 21.

2. Die Temperatur eines normalen Meerschweinchens.

3. Meerschweinchen mit normalem Gehirn geimpft.

4. Zusammenstellung der Dauer der Inkubationszeit sowie der Anzahl der erkrankten Meerschweinchen (in %) nach *Hamdi*, *Nicolle*, *Weil* und *Sparrow*.

5. Die Dauer des Fieberstadiums bei Meerschweinchen nach *Weil* und *Sparrow*.

6. Typisches Fleckfieber. Meerschweinchen 14 mit Hirnemulsion 6. i. p. geimpft. Nach 3 Monaten reinoculiert mit Hirn 21. Immun.

7. Fleckfieber bei Menschen.

8. Meerschweinchen 24., inficiert mit Hirn 21. Die Inkubation dauerte 13 Tage, die Kranheit 3 Tage, Temperaturerhöhung um 0,7°.

9. Meerschweinchen inficiert mit Menschenblut, von dem unser Stamm seinen Ursprung nimmt. Temperaturerhöhung nur um 0,5°.

10. Meerschweinchen 82, mit dem Hirn 72 inficiert; zeigte eine sehr lange Inkubationsdauer (14 Tage).

11. Meerschweinchen 77, mit Hirn 72 inficiert.Inkubation 15 Tage.

12. Meerschweinchen 51 mit Hirn 47 inficiert. Typisches Fleckfieber. Nach 2 Monaten—Reinoculation. Immun.

13. Meerschweinchen 54 mit Hirn 50 inficiert. Typisches Fleckfieber. Reinoculation mit Hirn 72 nach 3 Monaten. Immun.

14. Meerschweinchen 49 mit Hirn 45 inficiert. Atypische Fieberkurve. Nach 3 Monaten Reinoculation. Das Tier bleibt Immun.

15. Meerschweinchen 53, mit Hirn 50 inficiert. Atypischer Fall. Das Tier bleibt immun gegen ein Reinoculation nach 3 Monaten.

16. Meerschweinchen 67, mit Hirn 62 geimpft. Das Tier blieb gesung. Nach 6 Wochen Impfung mit Hirn 76, wonach das Tier ein abortives Fleckfieber durchmachte.

17. Meerschweinchen 83, mit Hirn 76 inficiert, nicht erkrankt.

18. Meerschweinchen 84, mit Hirn 76 inficiert, erkrankt typisch.

19. Meerschweinchen 98, mit Hirn einer geimpften Ratte inficiert, erkrankt typisch.

20. Meerschweinchen 99, mit Hirn einer geimften Ratte inficiert, Inkubation 7 Tage, Fieberstadium 8 Tage.

21. Kaninchen 30, mit Hirn eines geimpften Meerschw. inficiert, nicht erkrankt.

22. Meerschweinchen 96, mit Hirn des Kaninchens 30 inficiert, typisch erkrankt.

23. Macaccus sinicus, mit Hirn des Meerschw. 62 i. p. inoculiert, nicht erkrankt. Nach 2 Monaten wurde der Affe mit 5 ccm. Blut eines Fleckfieber-Kranken inoculiert, blieb refraktär.

24 Typhus exanthematicus. H. *Sparrow*.

II MITTEILUNG.

Die Weil-Felikssche Reaktion bei mit Fleckfiebervirus geimpften Kaninchen.

Es wurde zunächst eine Reihe von normalen Kaninchen-Sera auf ihr Agglutinationsvermögen für Proteus X_{19} geprüft. Diese Untersuchungen ergaben, dass in der Hälfte der Fälle eine Agglutination des b. Proteus X_{19} (Stamm O) in einer Verdünnung 1 : 10 — 1 : 20 stattfindet. Die übrigen normalen Kaninchensera besassen überhaupt keine Fähigkeit, den Proteus zu agglutinieren. Dagegen werden die Typhusbacillen mit den normalen Kaninchen-Sera in Verdünnungen bis 1 : 320 agglutiniert, durchschnittlich in Verdünnungen 1 : 40 – 1 : 80.

Die zweite Serie der Experimente war mit den Seren der Kaninchen angestellt, die mit Hirnemulsionen normaler Meerschweinchen i. p. geimpft wurden. Diese Sera wiesen keine Erhöhung ihrer Agglutinationsfähigkeit für Proteus X_{19} auf.

11 Kaninchen wurden mit dem Fleckfiebervirus (Hirnemulsion von Meerschweinchen verschiedener Passagen) i. p. geimpft (0,3 — 0,5 der Hirnsubstanz).

Die Prüfung der II Sera erwies bei 10 Kaninchen in 8 — 14 Tagen nach der Impfung eine Erhöhung des Agglutinationsvermögens gegenüber Proteus X_{19} bis 1 : 320. Der Stamm H wurde ebenfalls agglutiniert, aber in niedrigeren Verdünnungen. Gleichzeitig haben sich die Agglutinine gegenüber den Typhus und Paratyphusbacillen erhöht, aber in viel schwächerem Grade, als gegen Proteus X_{19}.

Die Vermehrung der Agglutinine gegen Typhusbacillen ist in diesem Falle unspezifisch, da dieselbe Erscheinung auch bei Kaninchen eintrat, die vorher mit Dysenterietoxinen behandelt waren. Dagegen ist die Agglutination des Proteus OX_{19} spezifisch und war bei den Dysenterie-Kaninchen nicht erhöht.

PIŚMIENNICTWO.

1. Anigstein L. Współczesny stan badań doświadczalnych nad etjologją duru plamistego. Przegl. Epidem. 1921 I. 399.

2. Dadey K. i Krachelska. M. Z serodjagnostyki duru plamistego. Przegl. Lekarski №№ 1—3. 1918.

3. Doerr R. Bericht über die VIII Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Cbl. f. Bakt. I. Or. 1921. 85 H. 2.

4. Doerr R. und Pick R. Experimentelle Untersuchungen über Infektion und Immunität bei Fleckfieber. Wiener klin. Woch. 1918. 31. 829.

5. Doerr R und Schnabel A. Experimentelle Untersuchungen über Infektion und Immunität bei Fleckfieber. Wiener klin Woch. 1919. 32. 523.

6. Doerr R., Schnabel A. und Vöchting K. Das Verhalten der Körpertemperatur bei Fleckfieber des Menschen und der experimentell infizierten Laboratoriumstieren. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1921. 31. 249.

7. Gotschlich E. Zum heutigen Stande der Lehre vom Fleckfieber. Ergebn. der Hygiene v. Weichhardt, Berlin, 1917, II.

8. Jürgens G. Das Fleckfieber. Bibl. v. Schjerning. 1916. 38. Berlin.

9. Kaczyński. Odczyn Widala i Weil-Felixa. Przegl. Lekarski 1919 №№ 12—13.

10. Karwacki L. Własności aglutynacyjne surowicy w tyfusie plamistym. Gaz. Lekarska 1917. № 41.

11. Kraus R. und De la Barrera M. Studien über Flecktyphus in Süd-Amerika. Biologische Reaktionen. III. Mitteilung. Zeitschr. f. Immunitätsfor. Or. 1922. 32. 1.

12. Krontowski. Sowremiennoje uczenje o sypnom tifie. 1920. Odesskij Sbornik.

13 Möllers B. und Wolff G. Zur Frage der Fleckfieber-Schutzimpfung. Deutsche med. Woch. 1920. 46. 484.

14. Nicolle, Ch Etat de nos connaissances experimentales sur le typhus éxanthematique. Bull. de l'Institut Pasteur 1920. 18. 1—60.

15. Nicolle Ch. Bull. de la Soc. de Pathol. Exot. 1915. 8. 161.

16. Nicolle Ch. Comptes rendus de l'Academie de sciences. 1916. 38. 163.

17. Nicolle Ch. Bull. de la Soc. de Pathol. Exot. 1917. 10. № 7. 1916, 9. № 7.

18. Nicolle Ch. et Blaizot. Annales de l'Inst. Pasteur, 1916, 30.

19. Otto R. und Winkler F. Zur experim. Fleckfieberinfektion der Meerschweinchen, Ratten und Kaninchen, sowie zur Rickettsienfrage. Zeitschr. f. Hygiene und Infekt. krankh. 1921, 93. 1.

20. Otto R. und Rothacker. Fleckfieberschutzimpfung. D. m. Woch.

21. Rocha-Lima da H. Das Fleckfieber. (Prowazek-Nöller. Handb. der patog. Protozoen. II. 1920).

22. Russ V. K. und Kirschner L. Studien über das Fleckfiebervirus. 1919. 45. 57.

23. Sierakowski S. Kilka uwag o odczynie Weil-Felixa w durze plamistym. Gaz. Lek. 1917. № 51.

24. Sterling St. Z badań bakterjologicznych nad durem plamistym. Gaz Lek. 1916 № 19.

25. Sterling St. i Sterlinżanka K. O odczynie swoistym Weil-Felixa. Gaz. Lek. 1917. № 11.

26. Sterlinżanka K. Wyniki stosowania odczynu Weil-Felixa. Przegl. Epidemjol. 1920. I. № 1.

27. Szokalski K. Odczyn Weil-Felixa w durze plamistym. Gaz. Lek. 1917 №№ 37—38.

28. Szokalski K. W sprawie odczynu Weil-Felixa w durze plamistym Gaz. Lek. 1917, № 50.

29. Szokalski K. Aglutynacja grupowa w przebiegu duru plamistego Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. 1921. 92. 38.

30. Weil E. Breinl, Gruschka Th. Untersuchungen über die experimentelle Fleckfieberinfektion und Immunität. Wiener klin. Woch. 1921. 39. 459.

31. Weil E. und Felix A. Serologische Untersuchung von Kaninchen nach Behandlung mit Fleckfiebervirus. Wiener Klin. Woch. 1920. 38. 423.

32. Weil E. und Felix A. Ueber die Bedingungen der Agglutininbildung durch das Fleckfiebervirus. Wiener Klin. Woch. 1920. 38. 655.

33. Weil E. und Felix A. Ueber das Verweilen des Fleckfiebervirus im Meerschweinchenorganismus. Wiener Klin. Woch. 1920. 38. 794.

34. Weil E. und Felix A. Ueber die Beziehungen der Fleckfieberagglutination zum Fleckfiebererreger. Zeitschr. f. Immunitätforsch. 1921. 31. 457.

35. Złatogorow, Sypnoj tif. 1915.

Z Pracowni bakterjologicznej Wojskowej Rady Sanitarnej.
(Kierownik dr. Z. Szymanowski).

Przyczynek do zmienności bakteryj czerwonkowych.

Podali

Dr. Z. SZYMANOWSKI i L. SZERESZEWSKI.

1. Podczas epidemji czerwonki w lipcu i sierpniu 1920 roku, z kału chorych wyosobnialiśmy niejednokrotnie bakterje, których własności biochemiczne były identyczne z własnościami biochemicznemi bakteryj czerwonkowych typu *Shiga-Kruse*. Były to laseczki nieruchome, odbarwiające się metodą *Grama*, zakwaszające cukier gronowy (gazy —), niezmieniające natomiast mannitu, maltozy, cukru mlecznego i agaru ze szkarłatem. Na płytkach z agarem *Endo* bakterje dawały kolonje blade i delikatne, o powierzchni ziarnistej i o brzegu ostrym, nierównym; środek kolonji był niekiedy wyraźnie sfałdowany i wypukły, czasem czerwonawy przy bezbarwnych brzegach. Obok tych cech odznaczały się te bakterje zapachem spermy, specyficznym dla bakteryj czerwonki typu *Shiga-Kruse*.

Wyhodowane bakterje nie zlepiały się pod wpływem surowic, aglutynujących bakterje czerwonki (*Shiga, Flexner*). Późniejsze badania wykazały nadto ich niezjadliwość: jedno uszko bakteryj nie zabijało królika (wagi około $1^1/_2$ kg.); po za obrzękami miejscowemi i nieznaczną stratą wagi, nie dostrzegaliśmy objawów chorobowych.

Wszystkie powyższe cechy charakterystyczne bakteryj wyhodowanych zniewalały nas do przypuszczenia, iż mamy do czynienia z zarazkiem czerwonkowym, analogicznym do opisanego przez *K. Schmitz'a* i tegoż imieniem ochrzczonym [1]). Dotychczasowe nasze badania nie wykazały jakiejś cechy różniącej; wszak i bakterje *Schmitz'a* były nieruchome, nie zlepiały się pod wpływem surowic aglutynujących bakterje czerwonki i, co najważniejsze, nie zakwaszały mannitu. Ten szczegół nie dopuszczał zidentyfikowania tych bakteryj z bakterjami rzekomo-czerwonkowemi, albowiem w myśl

---

1) UWAGA: Nie mając w ręku oryginalnych szczepów *Schmitz'a*, nie mogliśmy ich porównać pod względem serologicznym z naszemi, co byłoby niezbędne dla ustalenia tożsamości.

słów *Krusego*, nie zdołano dotychczas wyosobnić bakteryj rzekomo-czerwonkowych, któreby nie zakwaszały mannitu.

Jedna wszelako okoliczność nasuwała pewne wątpliwości. Epidemja, podczas której *Schmitz* wyosobnił wspomniane szczepy, miała charakter nawskroś czerwonkowy. Okoliczność ta z jednej strony, oraz brak wszelkich innych bakteryj czerwonkowych z drugiej — upoważniły autora do wysnucia wniosku, iż te właśnie bakterje są bakterjami czerwonkowemi i że były one jedynym czynnikiem chorobotwórczym omawianej epidemji.

Epidemja, podczas której wyosobnione zostały nasze szczepy, miała charakter zgoła inny: obok wspomnianych bakteryj zdołaliśmy wyosobnić cały szereg szczepów czerwonkowych typu *Shiga-Kruse* i rzekomo-czerwonkowych typu *Flexner i Strong*. Nie mieliśmy tedy danych, by wyhodowane, a bliżej jeszcze nieznane bakterje, zaliczać do bakteryj czerwonkowych, a tembardziej, by widzieć w nich istotną i jedyną przyczynę epidemji. Nie mniej przeto, a co podkreślić winniśmy: 1) materjał, z którego wyosobniliśmy wspomniane bakterje, był przysyłany do badania na obecność zarazków czerwonki, 2) odpowiadał charakterowi kału czerwonkowego (płynny, śluzowy, śluz.-krwawy) i 3) we wszystkich wypadkach przebieg choroby kazał przypuszczać, iż istotnie mamy do czynienia z czerwonką.

Okoliczności powyższe skłoniły nas do podjęcia badania w celu dokładnego określenia charakteru wyosobnionych bakteryj. W biegu badań doszły rąk naszych nowe prace *K. Schmitz'a*, w których mowa o zmianach, jakim z biegiem czasu uległy jego bakterje. Prace te tembardziej zwracały na siebie uwagę, iż szły w kierunku, zwalczanych przez *Schmitz'a* w pracy poprzedniej, przypuszczeń *Seligmann'a* i innych o możliwości procesu rozwojowego w grupie bakteryj *Shiga-Coli-Typhus*.

Seligmann wyosobnił cały szereg szczepów czerwonki, które mniej lub więcej odchylały się od typów znanych, a które między sobą wykazywały pewien stopień pokrewieństwa. Dają się one ugrupować w szereg, który stanowi jak gdyby pomost pomiędzy typowemi bakterjami *Coli*, a typowemi bakt. typu *Shiga*:

1. Szczepy, wytwarzające gazy — bliskie *Coli*.
2. Nieaglutynujące się szczepy typu *Flexner* bez własności antygenowych.
3. Trudnoaglutynujące się szczepy typu *Flexner* o specyficznych własnościach antygenowych.
4. Trudnoaglutynujące się szczepy typu *Flexner* o własnościach antygenowych, zbliżonych do typowych szczepów *Flexner*.
5. Typowe szczepy *Flexner*.
6. Szczepy aglutynujące się pod wpływem surowic *Flexner i Shiga*
7. Trudnoaglut. się szczepy typu *Shiga*.
8. Typowe szczepy *Shiga*.

Odnosimy wrażenie — powiada *Seligmann* — iż mamy przed sobą ogniwa łańcucha rozwojowego, łączącego szczepy okrężnicowe ze szczepami czerwonki typu *Shiga-Kruse*; dodaje przytem, iż na wysokości epidemji spotyka się prawie wyłącznie bakterje typowe, gdy natomiast formy przejściowe wyosobniać się dają na początku i przy końcu epidemji.

Schmitz w swojej pierwszej pracy występuje kategorycznie przeciwko spostrzeżeniom *Seligmanna*. Znalazł on w ciągu całej epidemji (w obozie jeńców) jeden tylko gatunek bakteryj o własnościach stałych, nie spotykając nigdy form przejściowych. Na tej właśnie podstawie wyodrębnił *Schmitz* wyhodowany przez siebie typ w specjalną jednostkę chorobotwórczą (bakt. *Schmitz'a*). Później dopiero przekonał się o zmienności owego typu. *Kruse*, otrzymawszy od niego wspomniane szczepy, skonstatował pośród nich obecność hodowli, rozszczepiających mannit, co skłoniło znów *Schmitz'a* do systematycznej rewizji szczepów, wówczas już co najmniej od roku hodowanych w laboratorjum. Rezultat był zgoła nieoczekiwany; badając już to poszczególne kolonje, już to cały szereg szczepów pochodnych, *Schmitz* otrzymał cały zespół szczepów o własnościach najrozmaitszych: niektóre zbliżały się do typu *Shiga-Kruse*, inne do prątka duru rzekomego *B*, inne znów do prątka okrężnicowego, a nawet do prątka duru brzusznego. Zdarzało się niejednokrotnie, że autor otrzymywał z pojedyńczego szczepu, wyhodowanego z jednej kolonji, cały szereg szczepów pochodnych o własnościach mniej lub więcej rozbieżnych, tak np. szczep $^{29}/_{6}$ dał, obok całego szeregu szczepów nietypowych, także typowe szczepy czerwonkowe (*Shiga-Kruse*), duru rzekomego i okrężnicy. Szczep $^{53}/_{15}$ dał szczepy duru rzekomego *B* i okrężnicowy i t. d.

Wyniki całego zespołu badań upoważniły autora do wysnucia wniosku, że zmiany szczepów bakteryjnych nie są przypadkowe; nie są one — powiada *Schmitz* — uwarunkowane czynnikami zewnętrznemi, lecz wewnętrznemi, rządzą niemi określone i stałe prawa. W celu objaśnienia tych zjawisk konstruuje *Schmitz* następującą hipotezę: poszczególne formy grupy *Shiga-Typhus-Coli* zawarte są w stanie potencjalnym w bakterji wyjściowej; rozwinięcie się tych form może być następstwem tylko wydarzenia wyjątkowego: autor nie cofa się nawet przed możliwością procesu płciowego.

Bakterje typu *Schmitz'a* zostały wyosobnione w różnych miejscowościach przez różnych badaczy; potwierdzają oni, iż mamy do czynienia z zarazkiem odrębnym, o specyficznych własnościach biochemicznych (*Lampl*, *Landsteiner*—Wiedeń, *Bauch*, *Gehrmann* — front wschodni; *Gaethgens* — Hamburg; *Kruse* — Lipsk; *Braun* — Frankfurt). Przeciwko spostrzeżeniom *Schmitz'a* wystąpił *M. Ornstein*; mimo całego szeregu badań i eksperymentów nie zdołał on skonstatować zmienności w szczepach omawianych bakteryj. W pracy swej autor zaznacza, iż źródłem omyłek i nieporozumień są dwa typy bakteryj, pokrewne bakterjom *Schmitz'a*: *b. fallax* różni się od *b. Schmitz'a* tem, iż po pewnym czasie fermentuje sacharozę; wykazuje też różnice antygenowe) i *b. inconstans* (na podłożach zachowuje się jak *b. fallax*; często, ale nie zawsze, zakwasza cukier gronowy z wywarzaniem gazów).

2. Badania nasze podjęliśmy nad dwunastoma szczepami bakteryj opisanych wyżej własnościach biochemicznych. Okazało się przecież, iż liczbę tę zredukować musieliśmy do pięciu, a to z następujących powodów:

a. przy powtórnem badaniu szczepów okazało się, iż niektóre z nich zakwaszały mannit, a aglutynacja z surowicą agl. bakterje *Stronga* dała wynik ujemny. Ponieważ przy pierwszym badaniu (2—3 tyg. przedtem) odczynu

zlepnego z surowicą, aglutynującą bakterje *Stronga*, nie robiliśmy, opierając się na fakcie, iż bakterje te, jako nie zakwaszające mannitu, do grupy bakteryj rzekomo-czerwonkowych należeć nie mogą, przeto na karb własnej nieuwagi zrzuciliśmy okoliczność, iż bakteryj tych nie zdołaliśmy odrazu określić i zróżniczkować. Jako bakterje czerwonkowe typu *Stronga*, usunęliśmy je z dalszego badania. Zapamiętamy jednak szczególny fakt, iż bakterje nie zakwaszające mannitu, zakwaszały go po upływie dwuch tygodni; „nauczyły się", jakby powiedział *Kruse*.

b. Powtórne badanie przyniosło nam inną jeszcze niespodziankę niektóre z badanych bakteryj okazały się bakterjami ruchomemi. Ponieważ poprzednie bakterje, badane na obecność ruchu, były brane z pożywek stałych, a tym razem z 24-godzinnej hodowli buljonowej, przeto wystąpienie ruchu, albo, powiedzmy inaczej, przejawienie się ruchu, przedtem zahamowanego, zaliczyliśmy do zjawisk aż nazbyt często spotykanych, całkiem nietajemniczych — rezultatem czego było to tylko, iż i te szczepy wykluczyliśmy z pośród wybranych do dalszego badania.

Pozostało nam tedy pięć szczepów: 9641, 9907, 9908, 9909, 10715. Niedokładności w określeniu bakteryj, które przejawiły się na wstępie naszych badań, miały tę dobrą stronę, iż wskazały źródła możliwych omyłek. Nauczeni doświadczeniem, operowaliśmy teraz materjałem pewnym, starannie określonym, hodowanym i przeszczepianym w warunkach, niedopuszczających jakichkolwiekbądź wątpliwości. Ma to tem większe znaczenie, iż zjawiska, z któremi spotykaliśmy się w biegu badań, do których nas ta ostatnie doprowadziły, należą do rzędu wybijających się i wymykających z ram tradycyjnego doświadczenia bakterjologicznego. Chodzi o to, iż z biegiem czasu własności biochemiczne badanych bakteryj uległy wybitnym zmianom.

Pozostawiając rozważania krytyczne na koniec niniejszej pracy, potrzebić tu musimy o technikę, jaką posługiwaliśmy się w naszych badaniach. Rzecz jasna, iż uwaga nasza zwrócić się nadewszystko musiała ku stworzeniu warunków, któreby upewnić nas mogły, iż operujemy materjałem stałym, szczepami absolutnie czystemi.

Głównem niebezpieczeństwem naszej pracy było to, iż idąc w kierunku określenia ewentualnych biochemicznych zmian bakteryj — boć przecie taki był charakter naszej pracy — mogliśmy do zmian zaliczać zanieczyszczenia zewnętrzne, obce bakterje, które w jakikolwiekbądź sposób dostały się do naszych kultur. Ustrzec nas od tego miały częste sprawdzanie szczepów, wygląd kolonij na pożywkach stałych i preparaty barwione. Ewentualne zmiany bakteryj miały natomiast wykazać przeprowadzane od czasu do czasu badania ruchu bakteryj w kropli wiszącej i zachowanie się bakteryj na podłożach (cukrach). W tym celu rozsiewaliśmy w grę wchodzący materjał na płytki *Endo* i badaliśmy własności biochemiczne całego szeregu kultur, pochodzących z poszczególnych kolonij. Rzecz jasna, iż jeżeli poszczególne kolonje badanego szczepu wykazywały jakąś różnicę w własnościach biochemicznych, dalsze badania podejmowaliśmy nad każdą z nich (nad wyhodowanemi z nich kulturami bakteryj) oddzielnie. W pierwszym razie kontynuowaliśmy badania nad jedną kulturą.

3. Przystępujemy do opisu zmian, które z biegiem czasu uzewnętrzniły się w naszych szczepach.

Szczep 10715.

Wyosobniony z kału 12/VIII 1920 roku. Laseczki nieruchome, odbarwiające się metodą *Grama*, zakwaszające cukier gronowy, niezakwaszające mannitu, maltozy i cukru mlecznego. Odczyn zlepny z surowicami aglutynującemi bakterje czerwonki ujemny (*Shiga, Strong* makrosk. i *Shiga, Strong Flexner* mikroskop. w kropli wiszącej). Surowica królika, uodpornionego tym szczepem, aglutynowała swój szczep do rozcieńczenia 1:3200, nie zlepiała natomiast bakteryj czerwonki i bakteryj *Ty.*, *Para A*, *Para B*.

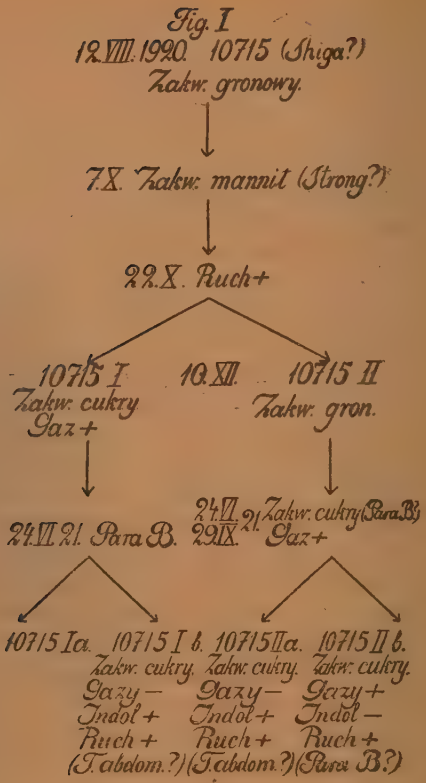
Sprawdzając po kilku dniach (16/VIII) zachowanie się bakteryj na podłożach, zauważyliśmy, iż po 3 dniach wrostu bakterje zakwaszają mannit. Zmiana ta uwydatniła się wyraźnie 7/X, t. j. po dwuch miesiącach od daty wyosobnienia bakteryj z kału. Wkróce potem (22/X) okazało się, iż bakterje intensywnie się ruszają w kropli wiszącej; jednocześnie analogiczne zmiany uwydatniły się w własnościach biochemicznych trzech innych szczepów.

Badanie (z dnia 10/XII) zachowania się na podłożach całego szeregu poszczególnych kolonij omawianego szczepu przyniosło istotną niespodziankę; z jednych kolonji wyosobniliśmy szczepy, zakwaszające mannit, maltozę i cukier gronowy i wytwarzające z nich gaz, niezmieniające natomiast cukru mlecznego, — z innych kolonij wyhodowane szczepy zakwaszały jeden tylko cukier gronowy, gazów nie dając. W obu wypadkach mieliśmy do czynienia z bakterjami ruchomemi. Nie ulegało najmniejszej wątpliwości, iż operujemy teraz różnemi szczepami, iż — jeśli tak powiedzieć można — macierzysty szczep rozszczepił się na dwie różne gałęzie. Dalsze badanie podjęliśmy, rzecz jasna, nad każdym z nowych szczepów z osobna; szczep, fermentujący cukry, oznaczyliśmy 10715 I, szczep zaś, niefermentujący cukrów — 10715 II.

Bakterje szczepu 10715 I zachowywały się teraz, jak bakterje *Para B* (rozszczepiały cukry z wytwarzaniem gazów, ruch +, gram —); rzeczywiście, odczyn zlepny z surowicą, aglutynującą bakterje *Para B*, dał wynik dodatni (1:1600; 1:3200).

Bakterje szczepu 10715 II zakwaszały, jak mówiliśmy, jeden tylko cukier gronowy. I tu przecież uwydatniła się zmiana: $^{24}/_{6}$ bakterje zakwaszały z wytwarzaniem gazu mannit, maltozę i cukier gronowy. Szczep ten zbliżył się zatem do szczepu bratniego 10715 I (z drugiej strony — do *Para B*); odczyn zlepny z surowicą, aglutynującą bakterje *Para B* i *Ty*, dał tu jednak wynik ujemny.

Z biegiem czasu w obu tych szczepach uwydatniły się nowe zmiany. Badając (8/X, 11/X) cały szereg kolonij, wyosobniliśmy z każdego dawnego szczepu znów po dwie gałęzie, pochodzące, rzecz jasna, z odrębnych kolonij. Gałęzie szczepu 10715 I nazwaliśmy 10715 I-a i 10715 I-b; gałęzie szczepu 10715 II nazwaliśmy 10715 II-a i 10715 II-b (Patrz fig. I i tabl. I).



10715 I-a i 10715 I-b.

Szczep 10715 I-a zachował wszystkie własności biochemiczne szczepu macierzystego 10715 I. Były to tedy bakterje ruchome, gram —, niewytwarzające indolu, rozszczepiające cukry (prócz mlecznego). Bakterje nie zlepiały się pod wpływem surowicy aglutynacyjnej *Ty*, zlepiały się natomiast pod wpływem surowicy agl. *Para B*, w rozcieńcz. 1:1600 i *Para C*, w roz. 1:400 i 1:800.

Bakterje szczepu 10715 I-b zakwaszały cukry, w żadnym z nich nie wytwarzając gazów. Ruch +, gram —, Indol +. Bakterje zachowywały się na pożywkach jak bakt. *Ty*, nie zlepiały się natomiast pod wpływem surowic aglut. *Ty*, *Para A* i *Para C*; pod wpływem surowicy, aglutynującej *Para B*, zlepiały się w rozcieńczeniu 1:400.

10715 II-a i 10715 II-b.

Bakterje szczepu 10715 II-a zakwaszały cukry, nie wytwarzając gazów. Ruch +, gram —, Indol +. Agl. sur. *Ty*, *Para A*, *Para C* ujemne; pod wpływem surowicy, aglut. *Para B*, bakterje zlepiały się w rozc. 1:200.

TABLICA I.

Szczep 10715 wyhodowany z kału płynnego (podejrzenie o czerwonkę), nadesł. dn. 9/8 1920 roku.

10715

	Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach.	Ruch	
12/8 1920	—	—	+	—	—	—	agl. Shiga ujemna
16/8	—	—	+	—	—	—	po 3 dobach Mannit + agl. Strong ujemna.
7/10	+	—	+	—			
22/10	+	±	+	—		+	

10715 I

	Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach	Ruch.	
10/12	+ gaz +	g + ±	g +	—	—	+	
24/6 1921	+ g +	+ g +	+ g +	—	—	+	agl. Para B 1:1600
24/9	+ g +	+ g +	+ g +	—	±	++	agl. Para B 1:3200

10715 II

	Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach.	Rach.	
10/12	—	—	+	—		+	
24/6 1921	+ g +	+ g +	+ g +	—	+ g +		
29/9	+ g +	+ g ±	+ g +	—	+ g +	++	agl. Para B ujemna „ t. abd. ujemne

10715 Ia

	Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach.	Ruch.	
10/10	+ g +			—			agl. P. B 1:1600
17/10						+++	Indol —
11/1 1922	+ g +	+ g +	+ g +	—			agl. P. C 1:800

10715 Ib

	Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Ruch.	
11/10	+ g —			—		agl. P. B 1:400
17/10					++	Indol +
11/1 1922	±	+	+	—		agl. P. C ujemna

10715 IIa

	Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach.	Ruch.	
8/10	+	+	+	—	+		agl. P. B 1:200
17/10						++	Indol +
11/1. 1922	±	+	+	—			agl. P. C ujemna

10715 IIb

	Man.	Malt.	Gr.	Ml.	Sach.	Ruch.	
8/10	+ g +	+	+ g +	-	+		agl. P. B ujemna
17/10						+++	Indol —
11/1 1922	+ g +	+ g +	+ g +	—			agl. P. C ujemna

Własności biochemiczne tego szczepu były tedy identyczne z własnościami biochemicznemi szczepu 10715 I-b.

Bakterje szczepu 10715 II-b zachowały wszystkie własności biochemiczne szczepu macierzystego 10715 II (Ruch +, gram —, Indol —, zakwaszanie cukrów z wytwarzaniem gazów). Bakterje i tym razem nie zlepiały się pod wpływem surowicy, aglut. *Para B*, ani też pod wpływem surowic, aglut. *Ty*, *Para A* i *Para C*. (Patrz tabl. II).

TABLICA II.

	Cukry						Aglutynacja			
	Mannit.	Maltosa	Gron.	Mlecz.	Ruch.	Indol	T. abd.	Para A	Para B	Para C
10715 Ia	+ g+	+ g+	+ g+	—	+	—	0		1:3200	1:800
10715 Ib	+	+	+	—	+	+	0	0	1:400; 1:800	0
10715 IIa	+	+	+	—	+	+	0	0	1:200; 1:800	0
10715 IIb	+ g+	+ g+	+ g+	—	+	—	0	0	0	0

By określić stanowisko serologiczne i wzajemny stosunek czterech szczepów (10715 Ia, 10715 Ib, 10715 IIa, 10715 IIb), wyhodowanych z jednego wspólnego pnia 10715, uodporniliśmy wspomnianemi szczepami cztery króliki. Zauważyliśmy, iż miano surowic królików, uodpornionych szczepami Ia i IIb (t. j. szczepami bakteryj, zakwaszających cukry z wytwarzaniem gazu, ale nie wytwarzających indolu) wzrastało znacznie szybciej, niż miano surowic królików, uodpornionych szczepami Ib i IIa (bakterje nierozszczepiające cukrów, ale wytwarzające indol) (Patrz tabl. II).

Aglutynacja szczepów odnośnych (10715 Ia, Ib, IIa, IIb) z surowicami królików, uodpornionych temiż szczepami, dała wyniki, podane na tablicy III-ej.

W celu określenia szczepów 10715 Ib, IIa i IIb, przeprowadziliśmy badania serodjagnostyczne ze szczepami paratyfusowemi, łaskawie udzielonemi nam przez Państwowy Zakład Badania Surowic w Warszawie. Wszystkie próby zlepne szczepów paratyfusowych (*Reading*, *Africa*, G, *Hogcholera*, *Witts urine*, *Witts blood*, *Mutton*, *Newport*, *Stanley*, *Binns*) z surowicami królików, uodpornionych szczepami 10715 Ib, 10715 IIa i 10715 IIb, dały wyniki ujemne.

Surowica królika, uodpornionego szczepem 10715 Ib, zlepia bakterje szczepu 10715 IIa i odwrotnie, surowica królika, uodpornionego szczepem 10715 IIa, zlepia bakterje szczepu 10715 Ib (1 : 100; miano surowicy 1 : 400).

TABLICA III.

	Ilość dawek	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1600
Ia	2.	++	++	++	++	+
	3.				++	+
	5.					
IIb	1.	++	++	++		
	2.			++	++	+
	3.			++	++	+
	5.			++	++	+
Ib	3.	+				
	5.	+	+	+		
IIa	2.	+	+			
	3.	+	+			
	5.	+	+	+		

Rezultat ten, a nadewszystko identyczne własności biochemiczne i zlepianie się tych szczepów pod wpływem jednej tylko surowicy, agl. *Para B* (1 : 200; 1 : 800), doprowadzają do wniosku, iż dwa te szczepy są szczepami identycznemi. (Patrz tabl. IV).

Szczepy 10715 Ia i 10715 IIb wykazują, jak widzieliśmy wyżej, identyczne własności biochemiczne, nie wykazują natomiast wspólnych własności serologicznych — są to tedy szczepy różne. Z drugiej strony własności serologiczne i biochemiczne tych dwuch szczepów różnią się zasadniczo od własności serologicznych i biochemicznych dwuch pierwszych szczepów (10715 Ib i 10715 IIa). (Patrz tabl. IV).

Reasumując wyniki powyższe, powiedzieć możemy, iż rozwój szczepu 10715 przebiegał w sposób następujący.

Bakterje stopniowo „uczą się“ zakwaszać mannit, potem i maltozę. Zaczynają się ruszać. Szczep rozszczepia się na dwie gałęzie: szczep 10715 I, zakwaszający cukry z wytwarzaniem gazów i szczep 10715 II, zakwaszający jeden tylko cukier gronowy (bez wytwarzania gazów). Szczep 10715 I okazuje się hodowlą *Para B*. Szczep 10715 II, nawracający z początku do jednej z przejściowych faz rozwoju szczepu macierzystego (10715), z biegiem czasu zdobywa (jak szczep bratni 10715 I) własności biochemiczne *Para B* — nie zlepia się jednak pod wpływem surowic, aglutynujących szczepy rzekomo-durowe.

TABLICA IV.

Surowica króla uodpornion. szczepem	Ze szczepem	Wyniki
10715 Ia	10715 Ib	Ujemny
10715 Ia	10715 IIa	Ujemny
10715 Ia	10715 IIb	Ujemny
10715 Ib	10715 Ia	Ujemny
10715 Ib	10715 IIa	aglut. 1 : 100
10715 Ib	10715 IIb	Ujemny
10715 IIa	10715 Ia	Ujemny
10715 IIa	10715 Ib	aglut. 1 : 100
10715 IIa	10715 IIb	Ujemny
10715 IIb	10715 Ia	Ujemny
10115 IIb	10715 Ib	Ujemny
10715 IIb	10715 IIa	Ujemny

Każda z tych gałęzi rozszczepia się na dwie nowe (10715 I na 10715 Ia i 10715 Ib; 10715 II na 10715 IIa i 10715 IIb). W każdym wypadku jedna z nowych gałęzi posiada wszystkie cechy szczepu macierzystego, zdając się w ten sposób kontynuować normalne życie tego szczepu (Ia posiada wszystkie cechy szczepu I, IIb posiada cechy szczepu II). Dwie pozostałe gałęzie różnych szczepów (Ib szczepu I i IIa szczepu II) zdają się nie mieć własności wspólnych ze szczepami macierzystemi; nawracają one jak gdyby do jednej z przejściowych faz rozwoju szczepu 10715 (z dn. 22 X), posiadają natomiast wszystkie cechy wspólne, są szczepami identycznemi.

Rozwój szczepu 10715 przebiegał dwiema drogami i w ostatecznym rezultacie, że pominiemy fazy przejściowe, dał nam trzy nowe szczepy bakteryjne, przyczem, co mieć będzie dla nas wartość szczególną, jeden z tych nowych szczepów należy jednocześnie do obu dróg rozwojowych szczepu badanego.

Szczep 9641.

Wyosobniony z kału 27 VII 1920 roku. Zachowanie się na podłożach i własności morfologiczne identyczne z zachowaniem się na podłożach i z własnościami morf. bakteryj czerwonkowych typu *Shiga-Kruse*. Bakterje nie zlepiają się jednak pod wpływem surowic, aglutynujących bakterje czerwonkowe (*Shiga*, *Flexner*, *Strong*).

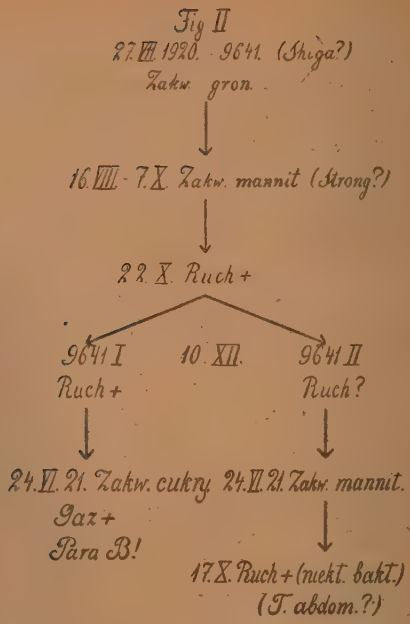
Sprawdzając po niespełna trzech tygodniach (16-III) zachowanie się bakteryj na podłożach, zauważyliśmy, iż bakterje zakwaszają mannit po 3 dniach wzrostu. Zmiana ta wystąpiła wyraźnie dopiero 7-X, t. j. po upływie nowych siedmiu tygodni. Wkrótce potem (22 X) okazało się, iż mamy do czynienia z bakterjami ruchomemi. Analogicznym zmianom, jak widzieliśmy, podlegał szczep 10715 i, jak zobaczymy niżej, jeszcze dwa inne szczepy.

Badając (10 XII) w kropli wiszącej ruch bakteryj, pochodzących z szeregu poszczególnych kolonij, zauważyliśmy, iż w niektórych wypadkach bakterje ruszały się bardzo intensywnie, w innych, pomimo dłuższej obserwacji, nie udało się stwierdzić wyraźnego ruchu bakteryj. W tym ostatnim wypadku określiliśmy ruch jako ±. Szczep wyjściowy (9641) dał nam tedy dwie gałęzie: 9641 I — o bardzo intensywnym ruchu bakteryj i 9641 II — o ruchu wątpliwym. Dalsze badania podjęliśmy, rzecz jasna, nad każdym nowym szczepem oddzielnie.

W zachowaniu się na cukrach bakteryj szczepu 9641 I uwidoczniła się po 6 miesiącach wybitna zmiana. Bakterje zakwaszały mannit, maltozę i cukier gronowy, wytwarzając gazy; cukier mleczny pozostał nadal bez zmiany. Tym razem własności biochemiczne badanych bakteryj były identyczne z własnościami biochemicznemi bakteryj tyfusu rzekomego (*Para B*). I rzeczywiście, odczyn zlepny z surowicą, aglutynującą bakterje *Para B*, dał wynik dodatni (1 : 1600; 1 : 3200). Wielokrotnie powtarzane badanie poszczególnych kolonij tego szczepu, aglutynacje i posiewy na pożywkach stałych i płynnych (cukry), nie przyniosły niczego nowego.

Zachowanie się na cukrach szczepu 9641 II było identyczne z zachowaniem się na cukrach szczepu macierzystego w pierwszej fazie rozwojowej: a więc bakterje nie zakwaszały cukru mlecznego i maltozy, zakwaszały natomiast cukier gronowy i mannit — ten ostatni, dopiero po trzech dobach wzrostu. Po pewnym czasie i tu wystąpiła zmiana: obok cukru gronowego, bakterje zakwaszały maltozę i mannit już po 24 g. wzrostu. Na okoliczność tę zwracamy uwagę, albowiem analogicznie względem mannitu zachowywał się szczep macierzysty (9641) omawianej teraz gałęzi (9641 II).

Możnaby powiedzieć, iż szczep 9641 II przechodził tę samą drogę rozwojową, jaką przebył jego szczep macierzysty 9641. Analogja jest tem większa, iż z biegiem czasu (17 X) uwidocznił się w kropli wiszącej szybki ruch bakteryj omawianego szczepu. Bakterje zachowywały się tedy na podłożach, jak bakterje tyfusu brzusznego — aczkolwiek różniły się od bakteryj tyfusowych wytwarzaniem indolu. Bakterje tego szczepu nie zlepiały się też pod wpływem surowic aglutynujących *Ty i Para B* (Patrz fig. II tabl. V).



Reasumując dane powyższe, powiedzieć możemy, iż rozwój szczep 9641 przebiegał w sposób następujący:

Bakterje stopniowo „uczą się“ zakwaszać mannit — i zaczynają si intensywnie ruszać. Szczep rozszczepia się na dwie gałęzie: I — o wybit nym ruchu, II — o ruchu wątpliwym. W dalszym rozwoju bakterje szczepu zdobywają własności biochemiczne i serologiczne *Para B*; bakterj szczepu II zdają się nawracać do punktu wyjścia szczepu macierzystego, b jak i on rozpocząć tę samą drogę rozwoju: szczep „uczy się“ stopniow zakwaszać mannit i wreszcie w kropli wiszącej przejawia się ruch bakteryj Szczep ten nie wytwarza gazu, przez co zbliża się biochemicznie do baktery *Ty.*, aczkolwiek różni się od niego wytwarzaniem indolu.

Szczep 9907.

Wyosobniony z kału 31-VII 1920 roku. Zachowanie się na podło żach i własności morfologiczne identyczne z zachowaniem się na podło żach i z własnościami morfologicznemi bakteryj czerwonkowych typ *Shiga*. Bakterje nie zlepiały się pod wpływem surowic, aglutynującyc bakterje czerwonki (*Shiga*, *Flexner*, *Strong*).

Główne fazy rozwojowe tego szczepu zbliżają się do faz rozwojowyc szczepów omawianych poprzednio. Bakterje i tu „uczą się“ zakwasza mannit (16-VIII, 7-X — patrz tabl. VI), potem maltozę; i tu zaczynaj się intensywnie ruszać. Zdolność wytwarzania gazów przejawia się wcz śniej, niż w szczepie 9641: 10-XII szczep podzielił się na dwie gałęzie, r dwa nowe szczepy, zktórych 9907 I zakwasza cukry z wytwarzaniem gazów

TABLICA V.

Szczep 9641 wyhodowany z kału płynnego (podejrzenie czerwonki) nadesł. dn. 24/7 1920 roku.

9641

	Mannit	Malt.	Gron.	Mlecz.	Sach.	Agar ze szkarl.	Ruch	
27/7 1920	−	−	+	−		−	−	agl. Shiga ujemna
16/8	−	−	+	−		−	−	po 3 dobach Mannit +; agl. Flexner, Strong ujemne
7/10	+	±	+	−	−			
22/10	+	+	+	−	−		+	

9641 I

	Mannit	Malt.	Gron.	Mlecz.	Sach.	Ruch	
10/12			+	−		+	
24/6 1921	+ gazy +	+ gazy +	+ gazy +	−	−	+	aglut. Para B 1 : 1600
29/9	+ gazy +	+ gazy +	+ gazy +	−	−	+	aglut. Para B 1 : 3200
11/10							aglut. Para B 1 : 1600

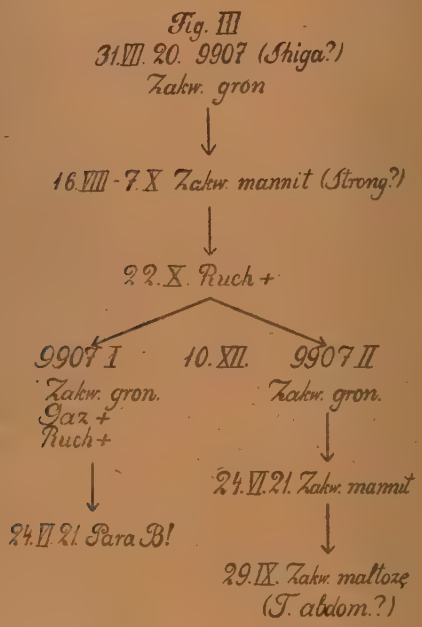
9641 II

	Mannit	Malt.	Gron.	Mlecz.	Sach.	Ruch.	Indol.	
10/12	−	−	+	−	−	? ±		po 4-ch dobach Mt. + Malt. +
24/6 1921	+	−	+	−	±			
29/9	+	+	+	−	±	±		agl. Para B, t. abd. ujemne
8/10	+	+	+	−				
17/10						+	+	Ruch szybki niekt. bakt.

9907 II — zakwasza jeden tylko mannit bez wytwarzania gazów. Bakterje w obu wypadkach ruchome.

Bakterje szczepu 9907 I zachowują się teraz, jak bakterje *Para B*, zlepiają się też pod wpływem surowicy, aglutynującej bakterje *Para B* (1:3200).

Bakterje szczepu 9907 II zachowują się na cukrach, jak bakterje szczepu macierzystego w pierwszej fazie rozwojowej. I tu — jak u powyżej omawianych szczepów — następuje zmiana: bakterje stopniowo zdobywają umiejętność zakwaszania mannitu i maltozy. I ten szczep również wkracza na drogę rozwoju swego szczepu macierzystego (Patrz fig. III i tabl. VI).



Szczep 9909.

Wyosobniony z kału 31/VII 1920 roku. W głównych zarysach rozwój bakteryj tego szczepu identyczny z rozwojem bakteryj szczepów wyżej omawianych, a mianowicie:

a. Bakterje nieruchome i nie zakwaszające mannitu i maltozy stopniowo zdobywają te właściwości.

b. Szczep dzieli się na dwa nowe szczepy: 9909 I — o własnościach biochemicznych i serologicznych *Para B* i 9909 II — o własnościach szczepu macierzystego.

c. Rozwój szczepu 9909 II idzie drogami rozwoju szczepu macierzystego: bakterje stopniowo zdobywają zdolność zakwaszania mannitu i maltozy (Patrz fig. IV i tabl. VII).

TABLICA VI.

Szczep 9907 wyhodowany z kału płynnego (podejrzenie czerwonki) nadesł. dn 28/7 1920 roku.

9907

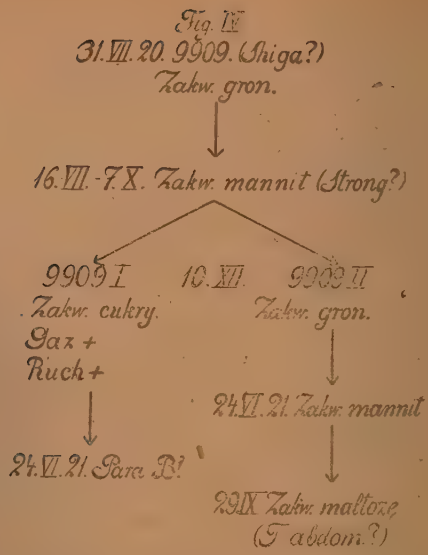
	Mannit	Malt.	Gron.	Mlecz.	Sach.	Agarze szkarł.	Ruch	
31/7 1920	−	−	+	−		−	−	aglut. Shiga, Flexner ujemne
16/8	−	−	+	−			−	po 3 dobach Mannit +; agl. Strong ujemna
7/10	+	±	+	−	−			
22/10	+	±	+	−	−		+	

9907 I

	Mannit	Malt.	Gron.	Mlecz.	Sach.	Ruch	
10/12			+ gazy +	−		+	
24/6	+ gazy +	+ gazy +	+ gazy +	−	−	+	agl. Para B 1 : 1600
1921	+ gazy +	+ gazy +	+ gazy +	−	+	+	agl. Para B 1 : 3200
29/9							agl. Para B 1 : 1600
11/10							

9907 II

	Mannit	Malt.	Gron.	Mleczny	Sach.	Ruch	Idol	
10/12	−	−	+	−	−	+		po 4 dobach Mannit +
24/6 1921	+	−	+	−	+			
29/9	+	+	+	−	+	±		aglut. Para B, T. abd. ujemne
8/10	+	+	+	−				
17/10						±	+	



4. Zestawiając zmiany, jakie z biegiem czasu uwydatniły się w zachowaniu się na podłożach i we własnościach morfologicznych czterech szczepów omawianych, zauważyliśmy, iż zmiany te, w zasadniczych rysach przebiegały we wszystkich szczepach jednakowo. Ta lub inna cecha uwydatniła się w jednym szczepie wcześniej, w innych później, ten lub inny szczegół przejawił się w jednym wypadku bardziej jaskrawo i dobitnie niż w drugim — mimo to u wszystkich omawianych szczepów uzewnętrzniły się te same fazy rozwojowe, ta sama kolejność w zdobywaniu nowych bądź biochemicznych, bądź serologicznych własności. Wszystkie szczepy stopniowo zdobywają zdolność zakwaszania cukrów; zakwaszanie mannitu jest zawsze pierwszym krokiem czy etapem ku nowym formom. We wszystkich wypadkach z biegiem czasu przejawia się intensywny ruch bakteryj, potem bakterje zdobywają zdolność wytwarzania gazów. We wszystkich wypadkach rozwój przebiega w kierunku zdobywania własności biochemicznych i serologicznych *Para B*; obok tego, we wszystkich wypadkach wyodrębniają się bakterje, które zachowują się na podłożach, jak bakterje szczepów macierzystych, by wreszcie, jak i one, rozpocząć tę samą drogę rozwoju czy zmian.

Ten zwrot części bakteryj danego szczepu do punktu wyjścia rozwoju szczepu macierzystego przejawia się szczególnie jaskrawo w szczepie 10715. Fenomen ten uzewnętrznia się tutaj kilka razy: po raz pierwszy tyczyć się będzie szczepu 10715 II, który zachowuje się (10 XII), jak szczep macierzysty (10715) w jednej z pierwszych faz rozwojowych. Podobnie i szczepy 10715 Ib i 10715 IIa zachowują się na podłożach, jak szczep macierzysty, a właściwie, jak szczep o dwa pokolenia wstecz (10715), w późniejszej niecofazie rozwojowej (ruch +, mannit + tych szczepów odpowiadają zachowaniu się szczepu 10115 z dnia 22/X).

TABLICA VII.

Szczep 9909 wyhodowany z kału płynnego (podejrzenie czerwonki) nadesł. dn. 28/7 1920 roku.

9909

	Mannit	Malt.	Gron.	Mleczny	Sach.	Agar ze szkarł.	Ruch	
31/7 1920	—	±	+	—		—	—	aglut. Shiga, Flexner ujemne
16/8	—	±	+	—			—	po 3 dobach Mannit +; agl. Strong ujemna
7/10	+	±	+	—	—			
22/10	+	+	+	—	—		—	

9909 I

	Mannit	Malt.	Gron.	Mleczny	Sach.	Rach.	
10/12	+ gazy +	+ gazy +	+ gazy +	—	—	+	
24/6 1921	+ gazy +	+ gazy +	+ gazy +	—	—	+	aglut. Para B 1 : 1600
29/9	+ gazy +	+ gazy +	+ gazy +	—		+	aglut. Para B 1 : 3200
11/10							aglut. Para B 1 : 1600

9909 II

	Mannit	Malt	Gron.	Mleczny	Sach.	Ruch.	Indol	
10/12	—	±	+	—	—	— Brownа		po dobach Mannit +
24/6 1921	+	—	+	—	+			
29/9	+	+	+	—	+	± ?		aglut. Para B T. abd. ujemne
8/10	+	+	+	—	+			
17/10						± ?	+	

Z powyższego zestawienia wyłania się prawidłowość rozwoju badanych czterech szczepów; pominąwszy drobne stosunkowo różnice w czasie, kolejność etapów wszędzie jest ta sama. Świadczy to, naszem zdaniem, że ewolucja ta jest następstwem nie czynników przypadkowych, jak zanieczyszczenie szczepów obcemi bakterjami lub zmienność składu pożywek i t. p., lecz, iż mamy tu do czynienia z procesem naturalnym, którego determinizm, niestety, narazie pozostaje niewyjaśniony.

5. Zarzuty i wątpliwości, z któremi spotkać się może nasza praca i które godzić mogą w rezultaty naszych badań, sprowadzają się nadewszystko do kwestji, czy wszystkie powyżej omawiane zmiany bakteryj nie są tylko zanieczyszczeniem badanych szczepów, czy nie mamy tu do czynienia z bakterjami obcemi, które w ten lub inny sposób dostały się do badanych szczepów? Rzecz jasna, iż zanieczyszczenie kultur jest możliwe nawet wobec najdalej posuniętej staranności w pracy—byliśmy też tej możliwości świadomi. Powyżej mówiliśmy o zabiegach, które przedsięwzieliśmy, by uniknąć zanieczyszczeń, o kontrolach, które miały usunąć z naszych szczepów ewentualne obce bakterje; — nie jest to przecież kryterjum objektywne, kryterjum, na podstawie którego moglibyśmy oprzeć twierdzenie, iż wszystkie zmiany, zauważone w szczepach badanych, są fazami rozwoju tychże szczepów, ich biochemicznemi zmianami, iż do badanych szczepów nie dostały się żadne bakterje obce. Kryterjum objektywnego, a tem samem mającego wartość naukową, dostarczy nam — jak podkreśliliśmy wyżej — zjawisko prawidłowości zmian, zachodzących w bakterjach; p r a w i d ł o w o ś ć t a w y k l u c z a p r z y p u s z c z e n i e o z a n i e c z y s z c z e n i u b a d a n y c h s z c z e p ó w o b c e m i b a k t e r j a m i.

Jedna z gałęzi czterech badanych szczepów zdobyła własności biochemiczne i serologiczne *Para B*. Podejmując tedy hipotezę zanieczyszczenia, przypuścić musielibyśmy, iż wszystkie cztery szczepy zanieczyszczone zostały temi samemi bakterjami, a mianowicie bakterjami *Para B*. Już zanieczyszczenie jednego szczepu bakterjami *Para B* jest nieprawdopodobne — cóż dopiero, kiedy fakt ten rozszerzamy na cztery szczepy. Ale, przypuśćmy, iż istotnie coś podobnego nastąpiło, że istotnie cztery badane szczepy zanieczyszczone zostały bakterjami *Para B*.

W historji każdego z badanych czterech szczepów uwydatnił się moment, kiedy, jednolity dotychczas szczep, dzielił się na dwie różne gałęzie; jedna z nich okazała się właśnie szczepem *Para B*, druga zaś nawracała do jednej z faz przejściowych szczepu macierzystego. Podejmując tedy hipotezę, że istotnie szczepy zostały zanieczyszczone bakterjami *Para B*, pierwszy z nowych szczepów, jako szczep obcy — *Para B*, odrzucamy, by podjąć pracę z oczyszczonym już szczepem wyjściowym (odrzucamy №№ I, by podjąć pracę nad №№ II). Tu przecież przejawia się ta sama prawidłowość w rozwoju bakteryj, ta sama kolejność poszczególnych faz, jakie uzewnętrzniły się na początku badania każdego szczepu. Bakterje i teraz uczą się zakwaszać mannit, przejawia się (acz nie wszędzie) intensywny ruch bakteryj.

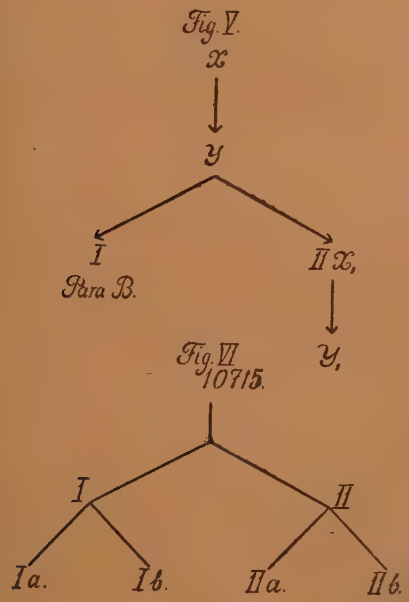
Wyjaśni to schemat następujący, podany na fig. V.

Po odrzuceniu grupy *Para B*, jako, w myśl naszego przypuszczenia, grupy zanieczyszczającej, grupa II daje nam ten sam rowój bakteryj (od x_1 do y_1), jaki uzewnętrznił się na początku naszych badań (od x do y). Podejmując tedy przypuszczenie, iż zmiany naszych szczepów są zanieczyszczeniem obcemi bakterjami, przyjąć musielibyśmy, iż obok zanieczyszczenia bakterjami *Para B* w każdym z naszych szczepów zachodziły ponadto dwa inne zanieczyszczenia i, co podkreślić należy, zanieczyszczenia temi samemi bakterjami.

Innych dowodów dostarczy nam szczep 10715.

Gałęź IIb tego szczepu, nie dając indolu, zakwasza wszystkie cukry (prócz mlecznego) z wytwarzaniem gazów — zachowuje się tedy, jak *Para B* (aczkolwiek aglutynacja z surowicą, aglut. bakt. *Para B*, jest ujemna). Powiedzieć możemy, iż szczepy te rozwijają się i teraz w kierunku zdobycia własności *Para B*.

Ale nie na tem koniec. Gałęź IIa szczepu 10715 jest, jak podkreśliliśmy wyżej, identyczna ze szczepem Ib (odnoga 10715 I). Mówiliśmy wyżej, iż rozwój szczepu 10715 szedł dwiema drogami i w ostatecznym rezultacie dał nam trzy nowe szczepy bakteryj, przyczem jeden z tych nowych szczepów należy jednocześnie do obu odnóg rozwojowych badanego szczepu. Przypatrzmy się fig. VI.



Po odrzuceniu grupy I-ej = grupie *Para B* (lewa strona schematu), jako, w myśl naszej hipotezy, grupy zanieczyszczającej szczep badany, rozwój grupy II-ej (prawa strona schematu) daje nam bakterje identyczne

z bakterjami grupy I-ej. Mamy tu tedy niczem niezbity dowód, iż bakterj grupy II-ej (IIa) powtórzyły drogę rozwojową bakteryj grupy I-ej (Ib).

Ta prawidłowość rozwoju bakteryj wyklucza możliwość zanieczy szczenia szczepów bakterjami obcemi: bo gdybyśmy, mimo nieprawdopodo bieństwa podobnego przypuszczenia, przypuścić mogli, iż cztery szczep zanieczyszczone zostały bakterjami *Para B*, to, po wyeliminowaniu tyc obcych bakteryj, nienależących do badanych szczepów, musielibyśmy mie do czynienia z bakterjami niezmieniającemi się; powtórne (a w szczepie 10715 aż poczwórne) zanieczyszczenie wszystkich czterech szczepów i w dodatku, zanieczyszczenie bakterjami, które tak samo zachowują się n podłożach (lub, powiedzmy inaczej, które w ten sam sposób wpływają n zachowanie się na podłożach bakteryj wyjściowych), a w szczepie 1071 bakterjami takiemi samemi — jest wykluczone.

Podejmując przypuszczenie o zanieczyszczeniu badanych szczepów obcemi bakterjami, przyjąć musielibyśmy, iż każdy z naszych szczepów by conajmniej dwukrotnie zanieczyszczany temi samemi bakterjami (obok za nieczyszczenia *Para B)* i że bakterje, zanieczyszczające szczepy wyjściowe były identyczne we wszystkich czterech wypadkach. Fakt ostatni jes tak nieprawdopodobny, iż zbędnem wydaje się nam podanie szeregu innyc argumentów, któreby potwierdzały niedorzeczność rozpatrywanego przy puszczenia. Przechodzimy tedy do możliwości innej, a mianowicie, iż ko lonje wyjściowe były kolonjami mieszanemi, iż składały się z tych bakteryj które uzewnętrzniły się, lub które wyosobnić zdołaliśmy w toku badań.

Omawiając powyżej zmiany, jakie uzewnętrzniły się w historji rozwoj naszych szczepów, podkreśliliśmy dobitnie prawidłowość tych zmian. Mó wiliśmy, iż:

1) wszystkie szczepy dzielą się na nowe, z których jeden zachowuj się na podłożach, jak szczep macierzysty,

2) iż szczep ten rozpoczyna drogę rozwoju swego szczepu macie rzystego,

3) iż rozwój własności biochemicznych jednego szczepu jest iden tyczny z rozwojem własności biochemicznych pozostałych trzech szczepów

Podejmując przypuszczenie, iż kolonje wyjściowe były kolonjam mieszanemi, musielibyśmy szczep, nawracający do punktu wyjścia szczep macierzystego, traktować również jako szczep, wyhodowany z kolonji mie szanej, jako szczep, na któryby składały się te same bakterje, jakie skła dały się na jego szczep macierzysty. A więc, mimo ciągłego operowania po szczególnemi kolonjami, mimo ciągłego rozsiewania materjału badaneg na płytki *Endo*, operowalibyśmy stale kolonjami mieszanemi, a co naj ważniejsze, kolonjami tak samo mieszanemi, na które składałyby się t same bakterje. Odrzucając tedy możliwość rozwoju czy zmian baktery zgodzić musielibyśmy się na fakt bardziej jeszcze tajemniczy, a mianowicie iż różne, ale we wszyskich wypadkach zawsze te same bakterje, tworzą ko lonje mieszane i że bakterje te pozostają w związku tak ścisłym, iż zwykł techniką bakterjologiczną nie jesteśmy w stanie wyeliminować z kolon mieszanych poszczególnych gatunków bakteryj.

Przeciwko postawionemu przypuszczeniu przemawia i argument następujący (posiłkuje się nim w swojej pracy i *Schmitz*).

Jak widzieliśmy, jedna z gałęzi czterech naszych szczepów zdobyła własności biochemiczne i serologiczne *Para B.* Gdybyśmy wyjść mieli z kolonij bakteryj mieszanych, w kale chorych musiałyby, obok bakteryj innych, być i obecne bakterje *Para B.* Nasunęłoby się tedy pytanie, dlaczego w żadnym wypadku nie zdołaliśmy tych bakteryj wyosobnić? Fakt ten byłby tem nieprawdopodobniejszy, iż tyczyłby się zbyt wielu wypadków (w naszych badaniach 4 : 5). (Uwagi powyższe tyczą się i innych szczepów, które uzewnętrzniły się w rozwoju szczepów badanych, np. szczepów 10715 II-a, 10715 II-b i t. d. W żadnym z wypadków badania początkowe nie wykazały obecności tych bakteryj w kale chorych).

6. Mówiliśmy powyżej, iż determinizm zmian, które uwydatniły się w naszych szczepach, pozostaje na razie niewyjaśniony. Zdołaliśmy tylko uchwycić, iż zmiany te idą w kierunku coraz większej zdolności rozszczepiania cukrów i przejawiania intensywnego ruchu. Nie sądzimy też, żeśmy zdołali pochwycić wszystkie fazy przejściowe łańcucha rozwojowego bakteryj; zdaje się przecież być pewnem, iż zakwaszanie mannitu jest zawsze pierwszym krokiem ku nowym formom, poczem następuje zakwaszanie innych cukrów wraz z wystąpieniem ruchu, następnie zaś wytwarzanie gazów.

Spróbujmy teraz sformułować niektóre wnioski ogólniejszej natury, wynikające z badań powyższych.

Przedewszystkiem stwierdzić musimy zmienność takich cech, zarówno biochemicznych, jak serologicznych, które codzienna praktyka bakterjologiczna zwykła uznawać za stałe normy rozpoznawcze. Nie wdając się w rozważania, czy są to mutacje czy warjacje, przyznać trzeba, że zmienność, jako taka, zdaje się nie ulegać kwestji. Narazie poprzestać musimy na stwierdzeniu zmienności na podłożach sztucznych; sprawa możności zmian analogicznych *in vivo* pozostaje jeszcze otwartą. Niektóre jednak obserwacje, pochodzące z własnej naszej praktyki, nakazują zwrócenie bacznej uwagi w tą stronę. Wypadków takich mieliśmy dwa: jeden dotyczył pacjenta, który jako rekonwalescent po czerwonce, stwierdzonej bakterjologicznie (typ *Shiga*), zapadł na ciężką sprawę tyfusową; posiew krwi i badanie kału stwierdziły obecność prątków rzekomo-durowych B. Drugi przypadek dotyczył lekarki, która przebyła ciężką sprawę tyfusową z 4-krotnemi nawrotami. Badanie bakt. krwi wykryło w pierwszym okresie prątki duru rzekomego B, natomiast później znaleziono w kale typowe prątki duru brzusznego, zlepiające się z surowicą chorej. Obserwacje te podajemy z wszelkiemi zastrzeżeniami; zwłaszcza zaś nie chcemy twierdzić, ażeby w pierwszym przypadku, gdzie pacjent leżał w szpitalu, było wykluczone zakażenie wtórne; trudniej byłoby nam przypuścić coś podobnego w przypadku drugim, gdzie pacjentka leczyła się w domu i pozostawała pod bardzo troskliwą i kompetentną opieką. Tak czy inaczej, w świetle naszych badań, należy bezwzględnie wziąć pod uwagę możliwość ewolucji zarazków. Przyszłe kliniczno-bakterjologiczne badania przypadków długotrwałych, o typowym zwłaszcza przebiegu, będą miały ostatnie słowo w tej sprawie.

Pod względem praktycznym badania nasze również nasuwają pewne uwagi. Przedewszystkiem, jeżeli tylko nie ograniczamy się do pośpiesznej djagnostyki, należy zawsze badać większą ilość kolonij i poddawać je perjodycznemu przeszczepianiu i kontroli. Następnie, atypowość zarazka nie przesądza jeszcze sprawy klasyfikacji etjologicznej procesu. Możliwe są prątki czerwonkowe, typowe pod względem biochemicznym, które jednak serologicznie zachowują się odmiennie; prątki rzekomo-durowe typu B wymagają niesłychanej ostrożności, gdyż pomiędzy niemi zwłaszcza rozmaitość serologiczna nie da się ująć w żadne ramy; niemal każdy szczep duru rzekomego B może być serologicznie odrębny. Jedynem kryterjum jest tutaj zlepianie się bakteryj z surowicą chorego.

PIŚMIENNICTWO.

1. K. Schmitz. Ein neuer Typus aus des Gruppe des Ruhrbazillen als Erreger einer grösseren Epidemie —Zeit. f. Hyg. 1917. Bd. 84.

2. E. Seligmann Zur Bakteriologie der Ruhr im Kriege.—Cent. f. Bakt. Bd. 79.

3. K. Schmitz. Ueber die Eigenschaften des Bacillus Schmitz und seine Verbreitung. Cent. f. Bakt. 1919. Bd. 83. H. 1.

4. K. Schmitz. Beschreibung von Veränderungen in Kulturen des Bacillus Schmitz. Cent. f. Bakt. 1919. Bd. 83. H. 2.

5. K. Schmitz. Die Hypothese des Renerationswechsels als Erklärung der Veränderungen in der Ruhr—Typhus—Coli—Gruppe. Cent. f. Bakt. 1919 Bd. 83. H. 3.

6. Hirschbruch und H. Thiem. Ueber Ruhrbacillen vom Typus Schmitz. D. med. Woch. 1918. № 49. S. 1353.

7. Lampl. Ueber einen neuen Typus von Dysenteriebazillen. Wiener Klin. Woch. 1918. № 30.

8. Max Ornstein. Zur Bakteriologie des Schmitzbazillus. Z. f. Hygiene und Infekt. B. 91. H. 1. S. 153.

Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Militärärtzlichen Institutes in Warschau.
(Leiter Dr. Z. Szymanowski).

Beitrag zur Variabilität der Ruhrbacillen.

mitgeteilt von

Dr. Z. SZYMANOWSKI und L. SZERESZEWSKI.

Im Sommer 1920 sind aus der Stühlen von typischen Ruhrfällen mehrfach Stämme gezüchtet worden, welche morphologisch, kulturell und biochemisch den *Shiga-Kruse* Bacillen ähnlich waren, aber von keinem

Ruhrserum weder *Shiga*, noch *Flexner*-agglutinirt wurden. Für Kaninchen waren sie so gut wie avirulent. Offenbar handelte es sich um Stämme, die am nächsten dem Bacillus von *K. Schmitz* standen. Es war uns zwar unmöglich, sie mit unseren Stämmen unmittelbar zu vergleichen. Der weitere Gang der Untersuchung war aber geeignet, unseren Verdacht zu festigen. Es waren im Ganzen 12 Stämme. Ein Teil von ihnen agglutinierte, nachträglich untersucht, mit einem Strong-serum. Wir haben sie anfänglich in dieser Hinsicht nicht untersucht, da sie Mannit unverändert liessen. Als sie aber mit Strongserum nach 2 — 3 Wochen agglutinierten, haben sie bereits „gelernt", Mannit zu röten. Ein anderer Teil ergab sich bei wiederholter Untersuchung als beweglich, während er früher diese Eigenschaft nicht besass. Dieser Umstand veranlasste uns zu einer sorgfältigen Prüfung der Variabilität, welche bei 4 Stämmen zu übereinstimmenden und unerwarteten Resultaten führte. Es muss betont werden, dass wir zwar keine Einzellkulturen anlegten, wohl aber stets von einzelnen Kolonien nach mehrfachen Ueberimpfung Stämme zur Untersuchung abstachen, und zwar immer mehrere Stämme von einer und derselben Kultur. Das halten wir für ausreichend, um grobe Fehler auszuschliessen. Uebrigens kann die Gleichartigkeit der Umwandlung bei verschiedenen Stämmen als der beste Beweis gelten, dass er sich hier um einen natürlichen Vorgang handelt. Die Beobachtung dauerte ungefähr 18 Monate. Die Bakterien „lernten" allmählich zunächst Mannit und Maltose ohne Gas zu bilden, später mit Gasbildung zu vergären. wurden dann beweglich und agglutinierten schliesslich mit *Para B* und mitunter auch mit *Para C* [1]) Serum. Diese Umwandlung liess sich mitunter bis in die dritte Generation verfolgen. Der Gang der Umwandlung war derartig, dass sich immer ein Stamm abspaltete, der die neue Eigenschaft erwarb, während ein anderer unverändert blieb. Die gut agglutinablen Stämme (mit *Para B-Serum*) waren auch bessere Agglutininbildner. Einzelne Töchterstämme waren untereinander serologisch verwandt und sogar identisch. Andere waren serologisch verschieden. Eine Verwandschaft mit einer ganzen Reihe von *Para B* stämmen (der Sammlung des Centr. Epid. Institutes in Warschau entnommen) liess sich nicht feststellen. Wir haben somit mit einer Entstehug von typischen *Para B*-stämmen aus einen *Schmitz*ähnlichen Stamm zu tun. In wie fern dieser Prozess bei der natürlichen Infektion in vivo möglich ist, müssen weitere Untersuchungen entscheiden. Jedenfalls ist die grösste Vorsicht bei der üblichen bakteriologischen Diagnostik angezeigt. Die Entscheidung, ob es sich um eine Mischinfektion oder um eine Umwandlung des pathogenen Agens handelt, kann mitunter schwer sein. Wir haben in unserer Praxis zwei derartige Fälle. In einem handelte es sich um einen Ruhrfall (*Shiga Kruse*), der in eine schwere *Para-B*-Infektion auslief, im anderen um eine *Para-B*-Infektion, die in einen typischen Abdominalis mit mehreren Rezidiven überging.

[1]) Para β der deutschen Autoren.

Z Kliniki Terapeutycznej Uniwersytetu Kijowskiego
(Dyrektor prof. F. W. Werbicki)

W sprawie ziarnistych i odłamkowych postaci laseczników gruźliczych i w sprawie sposobu ich barwienia.

Podał

Dr. WŁODZIMIERZ FILIŃSKI.

Oprócz zwykłych laseczników gruźliczych kwasoodpornych zostały opisane jeszcze dwie inne ich postacie, a mianowicie t. zw. *„ziarna“ Much'a* i *„odłamki“ Spengler'a*. Co się tyczy postaci ziarnistych, to pomimo tego, że istnienie ich zostało stwierdzone, znaczenie kliniczne pozostaje wątpliwe. Z drugiej strony, istnieje spór, czy ziarna i odłamki nie są jednemi i temi samemi tworami. Praca niniejsza jest próbą rzucenia pewnego światła na tę sprawę, jak również na sprawę wyboru sposobu barwienia laseczników gruźliczych, uchylających się od typu prawidłowego.

Ziarna *Much'a*, jak wiadomo, barwią się tylko według *Gram'a*, zaś zwykły lasecznik barwi się i według *Gram'a* i według *Ziehl'a*. Oprócz tego, zwykły lasecznik może być zabarwiony równocześnie podwójnie, według *Gram'a* i *Ziehl'a*, to znaczy na czerwono i na fioletowo. Istnieje kilka sposobów takiego barwienia (*Weiss, Wehrli i Knol, Berger, Fontes, Rosenblat*), z których za najlepszy uważam sposób *Hatano*. Preparat, zabarwiony podwójnie, wygląda w sposób następujący. Nieliczne laseczniki barwią się tylko na czerwono, większość zaś barwi się również na czerwono, lecz każdy lasecznik jest wysadzony ciemno-fioletowemi ziarnami, w ilości od 1 do 6 — 7. Niektóre prątki posiadają ziarna tylko na końcach, albo tylko na jednym końcu. Oddzielne ziarna spotykają się bądź zupełnie odosobnione, bądź ułożone łańcuszkami, podobnie jak w laseczniku. Ciekawy szczegół stanowi zjawisko, że niektóre z tych oddzielnych ziarn otoczone są czerwoną obwódką; inne mają tylko z jednej strony maleńkie czerwone dodatki, jakby resztki bakteryjnej protoplazmy.

Zdolność laseczników gruźliczych do zabarwiania się podwójnie wywołała przypuszczenie o istnieniu w każdym prątku dwuch różnych substancyj. *Much* twierdzi, że jedna z nich jest kwasoodporną, a druga gram-pozytywną; w pewnych warunkach, pierwsza z nich może zniknąć i wtedy

powstają postacie ziarniste. *Wirths'owi* wydaje się bardziej prawdopodobnem, że obie substancje są grampozytywne, a jedna posiada oprócz tego kwasoodporność.

Jak widać z podwójnie barwionych preparatów, laseczniki gruźlicze nie stanowią morfologicznie jednolitych prątków; można to zauważyć częściowo już przy zwykłem barwieniu, gdy większość laseczników ma też przerywany wygląd, ze słabo zabarwionemi, niekiedy zupełnie bezbarwnemi, miejscami. *Koch* uważa te przerwy za spory, *Kitasato i Bougert* za zjawiska degeneracji, a *Czystowicz i Kitt* za wodniczki, powstałe wskutek plazmolizy. Podobne przypuszczenia wypowiadano również co do ziarn *Much'a*; stąd też można się niekiedy spotkać z utożsamianiem tych dwuch elementów (*Rosenblat, Berger*). Według mych obserwacyj miejsca, niezabarwione metodą *Ziehl'a*, nie mają nic wspólnego z ziarnami grampozytywnemi. Jeżeli bowiem na preparaty, zabarwione metodą *Ziehl'a* lub *Ehrlich'a*, podziałać rozczynem *Lugol'a*, to w laseczkach wystąpi ciemna ziarnistość. Jod ma własność wzmacniania lub osłabiania zabarwienia, jednak trudno przypuścić, aby pod działaniem jodu bezbarwne miejsca zamieniły się na ciemno-czerwone lub ciemno-fioletowe ziarna. Prędzej należy myśleć, że grampozytywne ziarna znajdują się wewnątrz kwasoodpornych odcinków.

W sprawie znaczenia praktycznego ziarnistych postaci *Much'a* niema zgodności zdań. Podczas, gdy jedni (*Weiss, Wirths, Caan, Michajłow, Lebiediew, Korelkin, Kryłow, Wolf, Schulz*) przypisują im duże znaczenie rozpoznawcze, drudzy (*Geipel, Rosenblat, Bittrolff i Momose, Izaboliński i Storożewa*) odmawiają im jakiegokolwiek znaczenia klinicznego. Trzecia grupa autorów (*Dold, Schottmüller, Berger, Eisenberg, Liebermeister, Sokołowski, Dębiński*) zajmuje stanowisko pośrednie; za utwory, wywołujące gruźlicę, przyjmują oni nie oddzielne ziarna, a tylko łańcuszki, złożone z 3 — 4 ziarn, tworzące jak gdyby ziarnisty lasecznik.

Aby się przekonać o wartości rozpoznawczej odosobnionych ziarn sporządziłem całą serję preparatów, barwionych według *Gram'a* z takich plwocin, gdzie gruźlica była wyłączona. We wszystkich tych preparatach można było jednak znaleść, w mniejszej lub większej ilości, ziarna, posiadające wszystkie zewnętrzne przymioty „ziarn", opisanych przez *Much'a* i innych autorów. Te same plwociny badałem z antyforminą, ponieważ ziarna *Much'a* są wobec niej odporne (*Weichrauch, Weiss, Liebermeister, Pekanowitch*), jednak ilość ziarn nie tylko się nie zwiększyła, lecz, odwrotnie, w niektórych przypadkach znacznie się zmniejszyła. Stąd przyszedłem do wniosku, że we wszystkich preparatach, jak przed, tak i po antyforminie, miałem do czynienia z t. zw. „nieuniknionemi osadami" barwika. Oprócz tego udało mi się spostrzec, że barwniki nie jednakowo osiadają na każdym materjale. Tak naprzykład, ulubionym podkładem do wypadania osadów są twarogowate i zwapniałe gruczoły chłonne, to jest właśnie to środowisko, gdzie najczęściej znajdowano ziarna *Much'a*. Drobne te osady układają się niekiedy w postaci łańcuszków nad brzegami cząstek zwapniałej substancji i upodobniają się w ten sposób do laseczników ziarnistych. Spostrzeżenia te przekonały mnie o znikomej, lub prawie żadnej, wartości rozpoznawczej postaci ziarnistych.

Drugim odchyleniem od prawidłowego typu laseczника gruźliczego są postacie odłamkowe „*splitte*". Opisał je *Spengler* u ludzi, skłonnych ku wyzdrowieniu. Mogą być przypadki, w których odłamki są wyłącznymi przedstawicielami gruźliczego zakażenia ustroju. Oprócz odłamków są również i całe laseczniki, które tak samo, jak tamte, nie barwią się zwykłemi sposobami, a tylko według znanego sposobu pikrynowego *Spenglera*. Taką zmianę barwliwości przypisuje *Spengler* uszkodzeniu otoczki bakteryjnej. Zewnętrzny obraz odłamków jest bardzo różny. Niekiedy mają one wygląd punkcików, w większości zaś są to kawałki kształtu trójkątnego i czworokątnego lub też podobnego do ostrza włóczni; układają się bądź pojedyńczo bądź grupkami, albo też tworzą łańcuszki.

Odłamki znajdują się nietylko w stanie wolnym, ale również wewnątrz prawidłowego laseczника, podobnie jak ziarna *Much'a*. Podobieństwo to i fakt znajdowania odłamków i ziarn w tych samych produktach gruźliczych (*Fuchs-Wolfring*) były powodem, że niektórzy uważają je za te same twory. Przeciwko temu wystąpili silnie *Much i Caan*, a z nimi zgadza się większość autorów. Twierdzą oni, że ziarna i odłamki nie są tem samem, dlatego, że jedne od drugich różnią się bardzo kształtem (ziarna są okrągłe) i że odłamki są kwasoodporne w przeciwieństwie do ziarn.

Tym różnicom chcę poświęcić więcej miejsca, a przedewszystkiem zajmę się kwasoodpornością.

Jest zdaniem ogólnie przyjętem, że sposób pikrynowy barwienia laseczników gruźliczych stanowi tylko odmianę zasadniczego sposobu *Ziehl'a*. *Korelkin*, np. zrobił następujące doświadczenie. Niezabarwione preparaty plwociny gruźliczej pozostawił na 6 godzin w 10% rozczynie kwasu azotowego. W takich warunkach laseczniki tracą swą kwasoodporność. Preparat, zabarwiony następnie według *Ziehl'a*, dał wynik ujemny, zaś preparaty, zabarwione sposobem pikrynowym i sposobem *Gram'a*, wykazały laseczniki gruźlicze. Pomimo tego *Korelkin* pisze, że różnica między sposobem pikrynowym a sposobem *Ziehl'a* jest tak nieznaczna, iż nie można w różnicy tej szukać przyczyn powyższego zjawiska. Doświadczenie to powtórzyłem z plwocinami kilku chorych i otrzymałem te same rezultaty, jestem jednak zdania, że przyczyny tego trzeba szukać właśnie w ogromnej różnicy pomiędzy obu sposobami. Sposób pikrynowy jest bliższy do *Gram'a* niż do *Ziehl'a*; można powiedzieć, że w barwieniu sposobem pikrynowym i sposobem *Gram'a* istotną rolę grają te same czynniki.

Ażeby tego dowieść, trzeba przedewszystkiem powiedzieć kilka słów o sposobie *Gram'a*. Według ogólnie przyjętej teorji *Unna* jod działa tu jako zaprawa. Daje on trwały związek z pararozanilinami; związek ten zatrzymuje się w drobnoustrojach grampozytywnych i wymywa się z gramnegatywnych. Rozczyn *Lugol'a*, zawierający jod, może być zastąpiony w sposobie *Gram'a*, jak to stwierdził *London*, przez wodny rozczyn kwasu pikrynowego. Modyfikacja ta znana jest ogólnie pod nazwą sposobu *Claudiusa*.

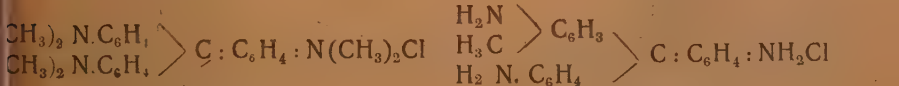
W sposobie *Grama* duże znaczenie ma odbarwianie preparatu. Odbarwianie to zależy od trwałości zabarwienia, które bywa dwojakie. Zależy ono albo od związku chemicznego substratu z barwnikiem, albo od trudnej dyfuzji barwiących drobinek. Trudność dyfuzji polega na tem, że roz-

puszczalny barwik przechodzi w substracie w stan nierozpuszczalny. Odbarwianie zatem może być również chemicznem albo fizycznem. Rozczyny dla chemicznego odbarwiania, np. kwasy, działają w ten sposób, że z trudno rozpuszczalnemi zasadami dają łatwo rozpuszczalne sole (*Friedberger, Pappenheim*), płyny zaś dla fizycznego odbarwiania, a więc woda, alkohol, aceton i t. p., działają głównie przez wymywanie. Trzeba tu jednak nadmienić jeszcze, że każda trwałość zabarwienia ma swój kres i dlatego zbyt długie odmywanie w sposobie *Gram'a* odbija się zgubnie na jakości preparatów. Z drugiej zaś strony trwałość chemiczna nie jest absolutnie odporna wobec czynników fizycznych, a fizyczna wobec chemicznych. To też okazuje się, że najlepsze odbarwianie w sposobie *Gram'a* jest kombinowane — chemiczno-fizyczne. Znalazło ono zastosowanie w modyfikacji *Much'a*, który zastosował 5% kw. azotowy, 3% kw. solny i aceton-alkohol. Wypróbowałem, że można jednak używać w tym wypadku i silniejszych rozczynów kw. azotowego, np. 12—15%, tylko przez odpowiednio krótszy czas.

Z tego wszystkiego widzimy teraz, że jeżeli w sposobie *Gram'a* rozczyn *Lugol'a* zastąpić kwasem pikrynowym i zastosować kombinowane odbarwianie kwasem azotowym i alkoholem, to będziemy mieć do czynienia z sposobem pikrynowym *Spenglera*, w którym, jako barwnik, służy, zamiast fuksyny, fiolet gencjany.

Powstaje teraz pytanie, czy fuksyna, pod wpływem takich zapraw, jak kw. pikrynowy lub jod, może być utrwalona w pewnych bakterjach, podobnie jak fiolet genc. Wiadomo dotychczas, że sposób *Gram'a* udaje się tylko z pararozanilinami, do których należy fjolet genc., fiolet metyl., błękit Wiktorji i t. d. Fuksyna, należąca do grupy rozanilin, nie nadaje się do tego celu, co kategorycznie twierdzą *Günther i Gabryczewski*. Podział jednak wspomnianych barwników na rozaniliny i pararozaniliny jest niewłaściwy i spotyka się jeszcze jedynie w podręcznikach lekarskich. Właściwie wszystkie te barwniki, ze względu na budowę chemiczną należą do jednej grupy.

Każdy barwnik zawdzięcza swe własności zawartej w nim, t. zw. grupie barwnikonośnej. Ciało takie nie jest jeszcze zdolne do barwienia. Własności barwnicze zyskuje ono dopiero po przyłączeniu grup barwnikowórczych, któremi są NH_2 i OH lub ich pochodne NHR, NR_2, OR. A więc, fuksyna, fiolet gencj., fiolet metyl. i inne, wyżej wspomniane barwniki, zawierają jedną i tę samą grupę barwnikonośną, a mianowicie chinon-imid $HN : C \subset C : C <$. Cała różnica pomiędzy fuksyną a t. zw. pararozanilinami polega na tem, że pararozaniliny posiadają rodniki CH_3—, C_6H_5—, wprowadzone do grup barwnikotwórczych, co widać z załączonych wzorów:



Fiolet metylowy. Fuksyna.

Fuksyna jest więc połączeniem tej samej grupy, do której należą i t. zw. pararozaniliny i, z punku widzenia teoretycznego, nic nie stoi na przeszko-

dzie, aby zapomocą kw. pikrynowego albo jodu mogła być również utrwalona w pewnych bakterjach. W praktyce przekonujemy się, że tak jest, tylko że temi bakterjami są wyłącznie laseczniki gruźlicze.

Sposób pikrynowy *Spengler'a* ma więc tę zaletę, że tak samo jak sposób *Grama*, daje możność zabarwienia grampozytywnych postaci laseczników gruźliczych i nie wykazuje oprócz nich żadnych innych bakteryj. Odłamki zaś *Spengler'a*, wnosząc ze sposobu barwienia, są tylko grampozytywne tak samo, jak ziarna *Much'a*.

Drugą różnicą między temi postaciami, na którą wskazuje *Much*, jest to, że odłamki mają kształt nieprawidłowy i wydaje się, jakoby powstały pod wpływem działania na laseczniki czynników chemicznych lub mechanicznych, podczas gdy ziarna są zawsze równe i okrągłe. Aby wytłómaczyć tę różnicę w kształtach wspomnę przedewszystkiem, że ziarna *Much'a* uważane są za postacie rozwojowe, z których powstają laseczniki. Łatwo też, wobec tego, wyobrazić sobie postacie przejściowe, które rzeczywiście udaje się zobaczyć przy podwójnem barwieniu. Widać wtedy, jak to już wyżej opisałem, ziarna otoczone paskiem protoplazmy lub też posiadające czerwone wypustki. Dodatków tych nie można uwidocznić w pojedyńczem barwieniu fioletami, gdyż fiolety posiadają wysoki stopień powinowactwa tylko ku ziarnistościom, protoplazmę zaś bakteryjną zabarwiają dość słabo. Fuksyna barwi silnie zarówno ziarna, jak i protoplazmę, a dlatego, barwiąc sposobem *Spengler'a*, widzimy ziarna z ich dodatkami, wskutek czego mają one kształt nieprawidłowy.

Wobec powyższego wydaje mi się, że najprawdopodobniej odłamki *Spengler'a* i ziarna *Much'a* są to jedne i te same twory.

Aby jeszcze przekonać się, jaką wartość kliniczną posiada pikrynowy sposób barwienia laseczników, wykonałem cały szereg badań porównawczych nad sposobami barwienia. Zaznaczę, że we wszystkich preparatach, barwionych według sposobów pikrynowego lub *Gram'a*, znajdowało się zawsze na preparacie więcej laseczników, niż podczas barwienia metodą *Ziehl'a*. Nadto w kilku przypadkach, w których, pracując metodą *Ziehl'a*, pomimo najstaranniejszego poszukiwania i nawet stosowania antyforminy, nie można było wykryć laseczników, znaleziono je w preparatach, przygotowanych sposobem pikrynowym i *Gram'a*. Fakty te mówią same przez się o korzyściach, jakie daje pikrynowy sposób barwienia.

Wnioski.

1. Podobnie, jak pararozaniliny (fiolet gencjany) w sposobie *Gram'a* utrwalają się w pewnych tylko bakterjach, tak samo fuksyna w sposobie *Spengler'a* utrwala się tylko w lasecznikach gruźliczych. W utrwaleniu ten najważniejszą rolę gra kwas pikrynowy, który, jak wiadomo, i w sposobie *Gram'a* może zastąpić rozczyn *Lugol'a*.

2. Te odłamki *Spengler'a*, które można wykryć wyłącznie sposobem pikrynowym, nie są więc kwasoodporne, a tylko grampozytywne.

3. Nieprawidłowy kształ odłamków zależy od silnego powinowactwa fuksyny nie tylko do ziarnistości, ale i do protoplazmy bakteryjnej.

4. Odłamki i ziarna są to najprawdopodobniej jedne i te same twory.

5. Pikrynowy sposób barwienia jest najlepszym sposobem wykrywania laseczników gruźliczych, dlatego że łączy w sobie zalety sposobów *Ziehl'a* i *Gram'a*.

PIŚMIENNICTWO.

1. Much H. Muench. med. Woch. 1907, 54, 1791.
2. Much H. Berl. klin. Woch. 1908, 45, 320.
3. Much H. Berl. klin. Woch. 1908, 45, 691.
4. Wirths M. Muench. med. Woch. 1908, 55, 1687.
5. Much H. Beitr. z. Kl. d. Tuberkulose XI.
6. Schottmüller, Muench. med. Woch. 1908, 55, 2564.
7. Kozłow A Russkij wracz 1910, IX, 661.
8. Zimnickij. Osnowy bakterio-biologiczeskago rozpoznawania tuberkuloza. Kazań, 1913.
9. Günther C. Rukowodstwo bakterjologji, Saratow, 1899.
10. Weiss L. Muench. med. Woch. 1909, № 9.
11. Michaiłow. Russkij wracz. IX, 617.
12. Weiss L. Berl. klin. Woch. 1909, 46, 1797.
13. Wehrli i Knol. Muench. med. Woch., 1909, 56, 2650.
14. Hatano. Berl. klin. Woch. 1909, 46, 1694.
15. Berger K. Centr. f. Bacter. 1910, 53.
16. Fontes A. Centr. f. Bacter. 49.
17. Rosenblat, Centr. f. Bacteriol. 58, 173.
18. Gasis D. Centr. f. Bacter. 50.
19. Niewiadomski. Medicinskoje Obozrenie 1904, № 1.
20. Betegh L. Centr. f. Bacter. 47.
21. Betegh L. Centr. f. Bacter. 49.
22. Korelkin. Russkij wracz. 1912, № 43.
23. Eisenberg Ph. Berl. klin. Woch. 1910, 47, 338.
24. Kryłow D. Zeitschr. f. Hygiene. 70.
25. Caán A. Centr. f. Bacter. 49.
26. Deycke. Muench. med. Woch. 1010. 57, 633.
27. Más y Magro, Ref. Muench. Med. Woch 1913, 60, 1903.
28. Czystowicz F. Medicinskaja mikrobiologja Tarasiewicza.
29. Geipel. Muench. med. Woch. 1909, 56.
30. Rosenblat S. Cent. f Bacter. 59, 371.
31. Schulz E. Deut. med. Woch. 1909, 35, 1569.
32. Bittrollf i Momose. Deut. med. Woch, 1912, 38, 16.
33. Izaboliński i Starożewa. Wraczebnaja gazeta 1913, XX, 1182.
34. Lebiediew, Russkij wracz, 1911, № 46.
35. Liebermeister G. Deut. med. Woch. 1909, 35, 1224.
36. Sokołowski. A. Wykłady kliniczne chorób dróg oddechowych.
37. Dembiński. Djagnostyka gruźlicy.
38. Wolf P. Muench. med. Woch. 1909, 56, 2312.
39. Spengler C. Zeitschr. f. Hyg. 1905, 49.
40. Spengler C. Deut. med. Woch. 1907, № 9.
41. Eisenberg Ph. Centr. f. Bacter. 49.
42. Gabryczewskij, Medicinskaja bakterjologja. Petersburg 1907.

43. London E. Archiw biologiczeskich nauk 1898, VI.
44. Schwalbe. Neue Farbtheorien. Stuttgart 1907.
45. Pappenheim A. Grundriss der Farbchemie. Berlin 1901.
46. Szaposznikow. Obszczaja technologja wołoknistych i krasiaszczich wieszczestw. Kijów 1912.
47. Orłow N. Osnownyja naczała pieczatania i kraszenia. Kijów 1909.
48. Kulczyckij. Technika mikroskopiczeskago izsliedowania. Charków 1909.
49. Michaelides. Beitr. z. Klin. d. Tuberk. VIII.

Travail de la Clinique therapeutique de l'Université de Kieff
(Professeur F. W. Werbicki).

Sur les formes granuleuses et fragmentaires et sur les méthodes de colorations des bacilles de la tuberculose.

Par W. FILIŃSKI.

CONCLUSIONS.

1) De même que les pararosanilines (gentianviolett) dans la méthode de *Gram* se fixent sur certains microbes, la fuchsine dans la méthode de *Spengler* se fixe exclusivement dans les bacilles de la tuberculose. L'acide picrique, qui peut être employé également dans la méthode de *Gram* au lieu de la solution de *Lugol*, joue le rôle le plus important dans cette fixation.

2) Parmi les fragments de *Spengler*, ceux qu'on trouve exlusivement par la méthode de l'acide picrique ne sont pas persistants aux acides, mais ils sont positifs au *Gram*.

3) La forme irrégulière des fragments dépend non seulement de l'affinité aux granulations mais ainsi de l'affinité à la substance plasmatique des bacilles.

4) Les fragments de *Spengler* et les granulations de *Much* sont probablement des formes identiques.

5) La méthode de *Spengler* est le meilleur moyen de découvrir les bacilles de la tuberculose puisqu'elle comprend les avantages des méthodes de *Ziehl* et de *Gram*.

Z II. Kliniki chorób wewnętrznych Uniw. Warsz.
(Dyrektor prof. dr K. Rzętkowski).

Opadanie krwinek a Crise Hémoclasique.

Podał

Dr MARCELI LANDSBERG
asystent kliniki.

Badania[1]) nad zmianami, zachodzącemi we krwi podczas t. zw. wstrząsu anafilaktycznego, wykazały, iż w stanach anafilaksji spotykamy się stale z zaburzeniami w krzepliwości krwi oraz z wybitną leukocytozą, poprzedzoną przez leukopenję. Objawom tym towarzyszy raptowny spadek ciśnienia krwi.

Wobec wielokrotnie spostrzeganego podobieństwa pomiędzy stanami anafilaktycznemi a niektóremi ciarpieniami, jak astmą, hemoglobinurją napadową, pokrzywką, chorobą posurowiczą i innemi, *Widal* oraz jego współpracownicy *Abrami, Brissaud, Joltrain* i inni podjęli szczegółowe badania nad zmianami, zachodzącemi we krwi i w układzie krwionośnym w okresie napadowym danego cierpienia. Badania te wykazały, że i tutaj, pod wpływem czynników zewnętrznych, powodujących atak danego cierpienia (np. w pokrzywce po spożyciu mięsa), można było spostrzec ze strony krwi i naczyń pewne objawy, dla stanów anafilaktycznych charakterystyczne. Są to: leukopenja, spowodowana prawdopodobnie przez wywędrowanie neutrofilowych leukocytów z naczyń obwodowych (a więc stosunkowa limfocytoza), spadek ciśnienia krwi, zmniejszenie się wskaźnika refraktometrycznego surowicy krwi oraz wzmożona jej krzepliwość. Zespół tych objawów, nazwany przez *Widala „Crise Hémoclasique"*, wskazuje, według niego, na obecność we krwi obcego białka, a wywołany zostaje przez pewne zmiany w ukształtowaniu koloidów osocza, zmiany spowodowane przez to właśnie obce białko lub jego pochodne. Późniejsze badania *Wi-*

1) Praca ta była przedstawiona w referacie na posiedzeniu Tow. Biologicznego w Warszawie, w dn. 5/IV 1922 r.

dala oraz jego szkoły wykazały, że taka sama „*crise*“ może (w odpowiednich przypadkach) wystąpić nietylko pod wpływem t. zw. obcego białka, lecz również i wskutek rozmaitych innych czynników natury mechanicznej, chemicznej, a nawet i czysto psychicznej. A ponieważ, według *Widala*, wymienione wyżej zmiany powstają na skutek zakłócenia równowagi koloidów ustroju, wszystkie te stany, w których owa „*crise*“ występuje, uogólniono pod wspólnem mianem stanów „*koloidoklastycznych*“.

Jak widzimy z badań *Widala*, zastrzyknięcie wszelkiego obcego białka powoduje wystąpienie tych czterech kardynalnych objawów kryzy, podanie zaś dożylne w ł a s n e j, niezmienionej krwi, kryzy nie wywołuje. Własna, natomiast, krew z ż y ł y w r o t n e j (mowa o psie), zastosowana dożylnie, działa jak ciało obce: powstaje „*crise*“. Znaczy to, iż wątroba jest niejako wałem ochronnym ustroju przed obcem białkiem pochodzenia jelitowego (pokarmowego); białko to, dopiero dzięki asymilacyjnej działalności wątroby, przechodzi do krwiobiegu głównego, jako ciało dla danego ustroju swoiste.

Na zasadzie tego doświadczenia opracowali *Widal, Abrami* i *Jancovesco* nowy sposób czynnościowego badania wątroby: spożyte białko zostaje przez wątrobę, czynościowo wydolną, zasymilowane, wątroba zaś niewydolna białko to lub jego pochodne przepuszcza do krwi obwodowej—w ten sposób powstaje „*crise*“. Innemi słowy: spożycie 300 cm^3 mleka przez osobnika o wątrobie chorej powoduje wystąpienie w jego krwi tych samych zmian, jakie spostrzegamy po pozajelitowem podaniu tej samej substancji. Nie wgłębiając się w mechanizm powstawania tego wstrząsu pokarmowego „*koloidoklastycznego*“, pozostaje kwestją niewyjaśnioną, czy te 4 wspomniane objawy powstanie swe zawdzięczają rzeczywiście zmianom w układzie koloidowym. Takie objawy, jak leukopenja, spadek ciśnienia krwi i wskaźnika refraktometrycznego surowicy, mogą być, i są prawdopodobnie spowodowane przez czynniki naczynioruchowe (*Bouche* i *Hustin*). Co się zaś tyczy zmiany krzepliwości krwi, to 1) zmiany, zachodzące tu, są sporne, jedni mówią o wzmożonem, inni o zwolnionem krzepnięciu krwi po 2) sam sposób określania zmian krzepliwości krwi daleki jest od doskładności.

„*Crusta phlogistica*“ starożytnych autorów, występująca np. w zapaleniu włóknikowem płuc, jest przejawem wzmożonego opadania krwinek. Jak to wykazał *Biernacki* (kilkanaście lat temu), szybka ta sedymentacja jest związana ze zwiększeniem się ilości fibrinogenu we krwi; *Hirszfeld* w r. 1917 wskazał na szybkie opadanie krwinek w przebiegu zimicy. W rok później *Faehreus, Hoeber, Linzenmeyer, Oettingen, Starlinger* oraz *Loehr* w badaniach nad opadaniem krwinek, ustalili, iż głównym czynnikiem owego opadania jest układ koloidowy osocza (a więc w pierwszej linji ciała białkowe). *Starlinger* zaznacza, że przedewszystkiem, wśród tych związków białkowych, główną rolę odgrywa fibrinogen i że czynniki, wzmagające jego ilość, wywołują jednocześnie szybsze opadanie krwinek. Jak wiadomo z badań *Modrakowskiego* i *Oratora*, podanie podskórne białka podnosi poziom fibrinogenu we krwi i, *ceteris paribus*, przyśpiesza opadanie krwinek. Według *Oettingena* nietylko wzrost fibrinogenu we krwi, ale

i wogóle wszelka zmiana stanu koloidów osocza w kierunku ich zmniejszonej dyspersji (a więc globulinemja), powoduje szybsze opadanie krwinek; dlatego też nie jest to tylko rzeczą trafu, że we wszystkich tych stanach, w których występuje przyspieszona sedymentacja krwinek, stwierdzamy też wzrost ilości globulin krwi.

Kierując się poglądami *Widala* na „*crise*", jako na skutek obecności obcego białka we krwi i biorąc pod uwagę wpływ podania obcego białka na szybkość opadania krwinek, przeprowadziłem szereg badań nad opadaniem czerwonych ciałek krwi w przebiegu kryzy.

Okazało się, że w tych przypadkach, w których, po spożyciu naczczo 300 cm³ mleka, występowała leukopenja, opadanie krwinek odbywało się w daleko szybszym tempie, niż przed wypiciem mleka.

Technika badania jest łatwa: do cylinderka, zawierającego jedną część 5%-ego rozczynu cytrynianu sodu, dodajemy (wprost z żyły) 3 części krwi. Po skłóceniu tej, już niekrzepnącej, krwi rozlewamy ją do probówek, dokładnie kalibrowanych (o średnicy 6 mm.) ze skalą milimetrową, Po pewnym czasie, wskutek równomiernego opadania krwinek, ponad niemi wytwarza się słupek osocza, wysokość którego mierzy się zapomocą skali milimetrowej. Po upływie 30 min. odczytujemy wysokość słupka plazmatycznego; im szybciej opadają krwinki, tem większy jest półgodzinny „słupek".

„*Crise Hémoclasique*" wywoływałem zapomocą podawania naczczo 300 cm³ mleka osobom, u których w ten lub w inny sposób stwierdzałem zaburzenia czynności wątroby. Na 43 badane przezemnie przypadki tego rodzaju tylko w 26 przypadkach wystąpił po spożyciu mleka główny stygmat Widalowskiej hemoklazji—leukopenja; z tych 26 przyp. w 21 przyp. zdołałem stwierdzić, łącznie z leukopenją, wzmożoną szybkość opadania krwinek. To przyspieszenie wynosiło od 15 do 26% pierwotnej szybkości, przeciętnie około 20%. Dla przykładu podam protokuł przypadku Nr 30.

I. Djagnoza: *Icterus catarrhalis.*

Ilość leukocytów przed podaniem mleka 10,200 w cm³ krwi.
„ „ po podaniu „ „ 7,100 „ „ „
½ godz. szybkość opad. krwinek przed podaniem mleka 16 mm.
„ „ „ „ po podaniu „ 21 „

W ten sposób widzimy, iż rzeczywiście, tak samo, jak po podaniu pozajelitowem białka, i w przebiegu „pokarmowej" kryzy opadanie krwinek ulega przyspieszeniu. A, ponieważ szybkość sedymentacji krwinek zależy jedynie od stanu koloidów osocza, zmiany tej szybkości są równoznaczne ze zmianami budowy fizycznej ciał białkowych osocza: wzmożona dyspersja zwalnia szybkość opadania, zmniejszona zaś przyspiesza.

W przebiegu „*crise*" spotykamy się z przyspieszeniem opadania krwinek, czyli że układ koloidowy uległ pewnym zmianom w kierunku zmniejszonej dyspersji: „*crise hémoclasique*" zupełnie słusznie zasługuje na miano „*crise colloidoclasique*".

Nie poruszam tutaj sprawy samego mechanizmu powstawania tej „*crise*". Nie jest rzeczą prawdopodobną, aby spożyte mleko, nawet w przypadkach cierpienia wątroby, działało jako białko obce; badania *Mauthnera, Cari, Picka* oraz *Kischa* przemawiają za tem, że mamy tu do czynienia z podrażnieniem układu naczyniowego wątroby przez obciążenie jelit większą ilością pokarmu; rzecz jasna, że wątroba chora reaguje wydatniej, aniżeli zdrowa.

Ten sam proces skurczu naczyń żylnych wątroby odbywa się również i pod wpływem podania białka obcego, peptonu i wogóle większej ilości ciał, dla ustroju nieobojętnych.

Jest rzeczą bardzo prawdopodobną, że właśnie to nagle występujące zaburzenie w działalności wątroby powoduje zmiany w układzie koloidowym: znany jest przecież wpływ tego największego w ustroju narządu o wydzielaniu wewnętrznem na sprawy konsolidacji i dezintegracji ciał białkowych osocza.

Jak widzimy, patogeneza wstrząsu hemoklastycznego nie jest wyjaśniona, przytoczone tu badania moje mają na celu wskazanie na zakłócenie równowagi koloidów krwi w przebiegu „*crise hémoclasique*" oraz wykazują, że do czterech objawów, charakterystycznych dla kryzy, należy dołączyć piąty, mianowicie przyspieszone opadanie krwinek we własnem osoczu.

Aus der II Mediz. Universitaetsklinik, Warschau.
(Director Prof. Dr. K. Rzętkowski).

Ueber die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen im Verlaufe der „crise hémoclasique".

von Dr. MARCELI LANDSBERG.
Assistent der Klinik.

Nach *Widal's* Angaben wird das Syndrom der haemoklastischen Krise durch Störungen des Kolloidbestandes des Blutes hervorgerufen, doch ist die Existenz dieser kolloidalen Zustandsänderungen im Verlaufe der Krise nicht deutlich erwiesen. Da die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen in hohem Maasse von der physikalischen Struktur der Plasmaeiweisskörper abhänging ist, so erweist sich das Studium dieses Phaenomens als geeignet für die Erkennung eventueller Zustandsänderungen im Kolloidhaushalte des Blutes.

Es wird gezeigt, dass in der Mehrzahl der Fälle der haemoklastischen Krise, die durch Einnahme von 300 ccm. Milch bei Leberkranken hervorgerufen wird, die Senkung der Blutkörperchen um ca. 20% beschleunigt wird.

Damit wird erwiesen, dass die haemoklastische Krise tatsächlich mit einer Störung des Kolloidgleichgewichts des Plasmas, einer „crise colloidoclasique", einhergeht.

Próby szczepienia trądu na kozach.

Podał

Dr. Med. RYSZARD BIEHLER

b. naczelny lekarz trędowiska w Rydze.

W ciągu ostatnich 25 lat nastąpiły doniosłe przewroty w nauce o trądzie. Ścisłe badania doświadczalne, dotyczące głównie hodowli prątka trądowego oraz przenoszenia tej choroby na zwierzęta, ostatecznie dostarczyły dowodów zaraźliwości trądu.

Bordone Uffreduzzi pierwszy wyhodował prątka kwasoodpornego (1881 r.). Inni badacze otrzymali jedynie hodowle prątka kwasoczułego, który przez czas długi nie był uznawany za swoisty dla trądu. Dopiero prace *Kedrowskiego*, *Stanziale*, *Sugai*, *Rjenstjerna* oraz moje wskazały na wielokształtność prątka trądu; wykazały, że istnieją szczepy kwasoodporne i kwasoczułe i udowodniły, że szczep kwasoczuły przekształcić się może w ustroju zwierzęcym w szczep odporny. *Much* (wspólnie z *Deykiem*, *Höslim i Leschkem*) usiłował dowieść, że prątki gruźlicy i trądu są ze sobą bardzo blisko spowinowacone, że isnieje między niemi ścisła łączność biologiczna i że ciała uodporniające, które się wytwarzają w ustroju przy szczepieniu jednego z tych zarazków, oddziaływują na przeciwciała całej grupy. *Much* uodpornił kozy prątkami gruźliczemi, rozpuszczonemi w jednym z kwasów organicznych. Otrzymana zawiesina zawiera wszystkie części składowe prątka, sam zaś prątek jest martwy. Po pewnym czasie zaszczepił on podskórnie trzem kozom prątki trądu, otrzymane z guzów trądowych (pod działaniem antyforminy). Czwarta koza kontrolna otrzymała taką samą ilość szczepionki trądowej podskórnie. U trzech uodpornionych kóz, po 2 — 4 tygodniach, wytworzyły się w miejscu szczepienia nacieki i guzy, które uległy zropieniu. W ropie *Much* stwierdził obecność prątków trądu, w samym zaś guzie wykazał tkankę ziarnistawą z komórkami olbrzymiemi i prątkami gruźliczemi. U kozy nieuodpornianej nie było żadnych zmian. Odczyn *Bordet-Gengou* ze swoistym przeciwciałem u kozy kontrolnej wypadł ujemnie, u uodpornionych zaś kóz dodatnio. Tę samą drogę obrałem w moich próbach szczepienia trądu kozom. Użyłem 3 kozy. Najpierw zbadałem serologicznie surowicę tych kóz na 4 poszczególne przeciwciała, zawarte w zawiesinie gruźliczej, którą otrzymałem od *Much'a*, na tuberkulinę oraz na swoisty antygen, otrzymany przy działaniu antyforminy na świeże guzy

trądowe. Wszystkie 3 kozy oddziaływały na każdy z czterech pierwiastków ciał gruźliczych ±; na tuberkulinę +, na swoisty zaś, z guzów trądowych dobyty antygen + + do + + + +. Wynik ten jest wręcz odwrotny do otrzymanego przez *Much'a*. Jedną kozę użyłem do kontroli, dwie zaś uodporniałem. Zastrzykiwałem podskórnie trzykrotnie, w odstępach tygodniowych: najpierw 5 ccm., a następnie po 10 ccm. zawiesiny gruźliczej. Badanie serologiczne, wykonane po trzech tygodniach, wykazało dla wszystkich 6 antygenów — —— lub + + + +.

Jako szczepionkę trądową stosowałem: a) miazgę, pozostałą po świeżych guzach, rozpuszczonych zapomocą antyforminy, b) zawiesinę z tej miazgi, c) świeży, wycięty guz, pokrajany na cząsteczki i d) świeży, ciepły guz w całości. Zawiesinę zastrzykiwałem pod skórę, a guzy i miazgę umieszczałem w głębokich kieszonkach podskórnych, które następnie zaszywałem i zaklejałem plastrem lepkim. Każda koza była zaszczepiona w 4 miejscach. U obu uodpornionych kóz wytworzyły się, już po 12 dniach, stwardnienia wielkości orzecha laskowego na 4 cm. poniżej miejsca szczepienia miazgi i całkowitego guza. Stwardnienia po 3 tygodniach dosięgły wielkości jaja kurzego, tworząc, wyraźnie odgraniczone, twarde, sprężyste guzy. U jednej kozy jeden z tych guzów pękł przy naciskaniu, przyczem wydzieliła się gęsta, żółtobiała, serowata masa. Pozostałe guzy przeciąłem. Zawartość ich była taka sama. Część ropy zbadałem natychmiast, część zostawiłem w 15% formalinie i wyskoku; ze ścianki guza wyciąłem tkankę do zbadania. W świeżej ropie, a także w ropie zachowanej w wyskoku, wykryłem nieco komórek i swoiste kwasoodporne prątki, ułożone oddzielnie i w grupach. Wielkością, kształtem i ugrupowaniem odpowiadały one najzupełniej swoistym prątkom trądu. Innych drobnoustrojów nie było. Koza nieuodporniona pozostała zdrowa, a materjał trądowy uległ zupełnemu wessaniu we wszystkich czterech miejscach szczepienia. Po 4 miesiącach, a zatem w 2 miesiące po pierwszem zaszczepieniu, powtórnie szczepiłem 2 uodpornione i jedną nieuodpornioną kozę. Użyłem wyłącznie świeżych ciepłych guzów w ten sam sposób, co w doświadczeniu pierwszem. Po 14 dniach powstały u odpornionych kóz stwardnienia, wielkości ziarnka grochu, 3 cm. poniżej miejsca szczepienia. Stwardnienia po 2 tygodniach powiększyły się do wielkości owocu śliwki. Guzy zawierały taką samą zserowaciałą ropę. W ropie świeżej i w badanej po kilku dniach, a ubogiej w komórki włókniste, znalazłem wyłącznie ogromną ilość swoistych kwasoodpornych prątków, barwiących się metodą *Ziehl'a* i charakterystycznie ugrupowanych (pr. fig. I). U kozy nieuodpornionej zaszczepiony materjał trądowy uległ wessaniu bez śladu.

Widzimy zatem, że kozy, uodpornione na gruźlicę, oddziaływały na szczepienie materjałem trądowym zupełnie tak, jak zdrowe zwierzęta reagują na zastrzykiwanie prątków gruźliczych. Swoisty odczyn trądowy *B.-G.* wykonany tego samego dnia, wykazał + + i + + + +, t. j. pozostał takim samym, jak przed szczepieniem u uodpornionych i u nieuodpornionych kóz.

Histologiczne badania wyciętej tkanki z guzów i nacieków wykazały młodą tkankę łączną i obecność licznych limfocytów.

Dwie świnki morskie, którym zaszczepiłem do otrzewnej ropę z guzów, pozostały zdrowe. Sekcja, wykonana po 4 miesiącach, nie wykazała żadnych schorzeń. W śledzionie, wątrobie i nerkach ujawniono nieznaczne zmiany, nie posiadające cech swoistych, ani dla gruźlicy, ani dla trądu.

Fig. I.

Sądzę, że wyniki, jakie otrzymałem z moich szczepień, upoważniają do wniosku, że przez użycie materjału trądowego powiodło mi się spowodować u zwierząt swoiste zmiany chorobowe. Jakkolwiek moje badania nad odchyleniem dopełniacza surowicy szczepionych zwierząt, w przeciwieństwie do wyników *Much'a*, nie pozwalają na twierdzenie, że zarazek przyjął się nie tylko anatomicznie, lecz i biologicznie, sądzę jednak, żem dowiódł, że zaraza rozwinęła się do pewnego stopnia. Przez wprowadzenie do ustroju materjału trądowego, udało mi się bowiem spowodować zmiany anatomiczne (guzy) u zwierząt uodpornionyzh przeciw prątkom gruźliczym. Guzy te zawierały wielką ilość swoistych prątków trądu. A zatem, prątek trądu, który w zdrowym ustroju kozy, użytej do kontroli, nie wywoływał żadnych zmian chorobowych, spowodował je u zwierząt, które w pewnym kierunku były uodpornione.

Wszystkie kozy, użyte do doświadczeń, pozostały przy życiu i były obserwowane w ciągu 2 lat. Długotrwający okres utajenia (od 5 do 15 lat) wymaga długoletnich badań i wyczekiwań na możliwą reakcję. Niestety, wypadki wojenne i przewroty społeczne przerwały i uniemożliwiły dalsze badania.

Lepra Impfversuche bei Ziegen.

Dr. Med. R. BIEHLER.

Fr. Leitender Arzt an Rigaschen Leprosorium.

Es wurden mit frisch entnommenem Lepramaterial drei Ziegen geimpft, die vorher nach *Much* mit vier Partialantigenen aus Tuberkelbazillen vorgeimpft wurden. Es entstanden 4 cm. unterhalb der Impfstelle nach 12 — 15 Tagen pralle Geschwülste, deren Inhalt aus gelber käsiger Masse bestand. In dem Eiter liessen sich mikroskopisch spärliche Zellen und nach Ziehl gefärbte charakteristische säuerfeste Stäbchen finden. Bei der nicht vorgeimpften Ziege wurde das Leprom glatt resorbiert. Die Komplementbindung mit Lepraantigenen war sowohl bei den geimpften wie bei Kontroltieren, vor wie nach der Impfung, positiv. Die Versuche erlauben nicht zu behaupten, dass die Infektion mit Lepramaterial nicht nur anatomisch, sondern auch biologisch gehaftetet hat, wie dies *Much* annimmt. Immerhin beweisen die Befunde massenhafter charakteristischer Leprabacillen, dass eine Infection stattfand.

Z Państwowego Zakładu Badania Surowic.
(Dyr. Dr. L. Hirszfeld).

Wpływ pochodnych arsenobenzolu na krzepliwość krwi.

Podała

Dr. EMILJA HELMANOWA

W toku badań nad neosalwarsanem, jakie wykonywaliśmy w Państw. Zakładzie Badania Surowic [1]), podczas zastrzykiwań 10%-ego roztworu neosalwarsanu dożylnie królikom i myszom, zwróciliśmy uwagę na silne krwawienia, które trudno było zatamować. Nasuwało się przypuszczenie, że neosalwarsan działa hamująco na krzepliwość krwi. Celem wyświetlenia tego zjawiska, zostało wykonane następujące doświadczenie.

Królikowi zastrzyknięto 2 cm^3 na kilo żywej wagi 10%-ego roztworu neosalwarsanu w wodzie destylowanej i sterylizowanej do żyły usznej, wziąwszy z carotis przed zastrzyknięciem 5 cm^3 krwi. Natychmiast po zastrzyknięciu pobraliśmy z tejże tętnicy próbkę krwi; po 6 minutach była wzięta druga próba, po 14 minutach — trzecia, a po 32 minutach czwarta, przyczem każdorazowo braliśmy krew do dwóch probówek, jednej zwykłej i drugiej, której ścianki pokryte były wewnątrz parafiną. Notowaliśmy czas, który był potrzebny, by się wytworzył skrzep. Rezultaty otrzymane podajemy poniżej.

	Probówka zwykła	Probówka parafinowana
Krew wzięta przed zastrzyknięciem	skrzepła po 6 minutach	skrzepła po 1 godzinie
Krew wzięta natychmiast po zastrzyknięciu	skrzepła dopiero po 72 godzinach	skrzepła dopiero po 72 godzinach
Krew wzięta w 6 minut po zastrzyknięciu	skrzepła dopiero po 72 godzinach	skrzepła dopiero po 72 godzinach
Krew wzięta w 14 minut po zastrzyknięciu	nie skrzepła po 72 godzinach	nie skrzepła po 72 godzinach
Krew wzięta w 32 minuty po zastrzyknięciu	skrzepła dopiero w przeciągu 24 godzin	nie skrzepła po 72 godzinach

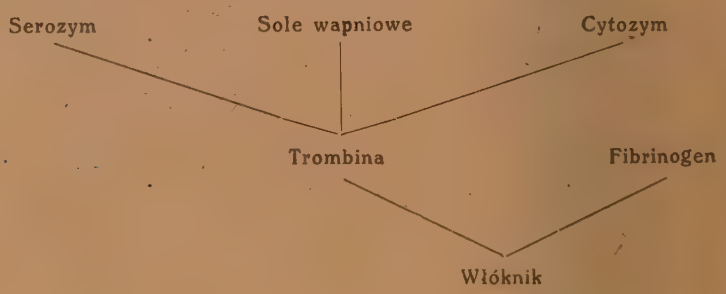
1) Salwarsan, oddawany do użytku publicznego, powinien być, według prawodawstwa polskiego, uprzednio badany pod względem ilości arsenu, w nim zawartego, pod względem biologicznym i klinicznym. Badania biologiczne wykonywane są w P. Z. B. S.

Podane powyżej wyniki doświadczenia wykazują, że neosalwarsan, wprowadzony do ustroju, posiada w wybitnym stopniu własności hamujące krzepnięcie krwi. Krew, wzięta z królika przed zastrzyknięciem, krzepła w zwykłej probówce po 6 minutach, zaś, wzięta natychmiast po zastrzyknięciu zwykłej dawki neosalwarsanu, krzepła dopiero po 3 dniach, przyczem zaznaczyć należy, że zahamowanie to wystąpiło natychmiast po zastrzyknięciu i trwało, przez cały czas doświadczenia.

Gdy do niekrzepnącej krwi, wziętej z królika, któremu zastrzyknęliśmy zwykłą dawkę neosalwarsanu, dodamy jego krwi normalnej, krew ta również nie krzepnie. Jakiemu mechanizmowi przypisać należy tę właściwość hamującą neosalwarsanu? Czy neosalwarsan działa hamująco na krzepliwość krwi tylko in vivo, jak to się dzieje np. z peptonem, czy działa również in vitro? Jest znanym faktem, że po zastrzyknięciu peptonu do żyły psa, wątroba jego reaguje, wydzielając *antytrombinę*, która może utrzymać krew w stanie płynnym; in vitro zaś pepton nie ma własności, hamujących krzepnięcie krwi, przeciwnie, może powodować krzepnięcie dzięki *cytozymowi*, który zawiera. Należało więc zbadać, czy neosalwarsan działa hamująco na krzepnięcie krwi tylko w ustroju zwierzęcym, czy też i poza ustrojem. Podług teorji *Bordeta* i *Delange'a*, która jest udoskonaleniem poglądu na mechanizm i istotę krzepnięcia krwi *Schmidta* i jego szkoły, *Fulda*, *Spira* i *Morawitza*, cztery ciała są niezbędne, by krew skrzepła: cytozym ciało ciepłostałe z rodziny lipoidów, znajdujące się w komórkach, a specjalnie w płytkach krwi; serozym, ciało ciepłochwiejne, znajdujące się zwykle w osoczu w stanie nieczynnym, jako proserozym; sole wapniowe i fibrinogen.

Gdy serozym, cytozym i sole wapniowe wchodzą w pewien wzajemny układ, wytwarza się trombina, która powoduje zamianę fibrinogenu na fibrinę.

Schematycznie można to przedstawić w następujący sposób.



Celem zbadania istoty hamowania krzepnięcia krwi przez neosalwarsan, przystąpiliśmy do analizy wpływu tego preparatu na poszczególne stadja krzepnięcia. Badaliśmy wpływ neosalwarsanu, poddając jego działaniu serozym, następnie cytozym i wytworzoną trombinę. W badaniach tych zachowywaliśmy izotonję, sprawdziwszy uprzednio, że 5%-owy roztwór neosalwarsanu jest izotoniczny z krwią. Dla

roztworów słabszych rozcieńczaliśmy neosalwarsan roztworem fizjologicznym. Neosalwarsan był używany w granicach od 5% do 0,001%. Niezbędne w pracy płyny otrzymywaliśmy, stosując się do przepisów *Bordeta*, zmodyfikowanych przez *Hirszfelda* i *Klinglera* [1]); zamiast czystego fibrinogenu, używaliśmy osocza szczawianowego.

Technika doświadczeń była następująca: wstawialiśmy probówki o jednakowej średnicy i wielkości rzędem; do każdej z probówek wprowadzaliśmy po 0,1 cm³ cytozymu (ew. serozymu lub trombiny), w rozcieńczeniu 1 : 60, następnie po 0,1 cm³ neosalwarsanu w stężeniu 5%, 2,5%, 1,75%, 1,25%, 1%, 0,75%, 0,5%, 0,25%, 0,2%, 0,175%, 0,15%, 0,125%, 0,1%, 0,175%, 0,05%, 0,25%; pozostawialiśmy cytozym (ew. serozym lub trombinę) pod działaniem salwarsanu w przeciągu 15 minut. Po upływie tego czasu dodawaliśmy 1,0 cm³ roztworu wapnia w NaCl i 0,5 cm³ rozcieńczonego serozymu. Mieliśmy w probówce wszystkie czynniki, niezbędne dla wytworzenia się trombiny, która zwykle tworzy się w przeciągu 15 minut. Po 15 minutach dodawaliśmy fibrinogenu w postaci osocza szczawianowego, obserwowaliśmy, pochylając ostrożnie probówkę, moment, gdy tworzy się skrzep i notowaliśmy ilość minut, jaka upłynęła od chwili dodania szczawianu wapnia do chwili powstania skrzepu. Dla kontroli mieliśmy jedną probówkę, w której był cytozym, serozym, sole wapniowe i włóknik w tej samej ilości, co w innych probówkach, ale

---

[1]) Osocze szczawianowe otrzymywaliśmy w następujący sposób.

Braliśmy z *v. jugularis* kozła krew idącą silnym strumieniem, do kolbki szklanej, w której znajdował się 1% roztwór szczawianu sodowego, obliczając tak, by krew zebrana zawierała 1‰ szczawianu. Należy uważać, by z powodu różnicy między temperaturą krwi a ścianek kolbki, na ściankach nie osadzała się woda kondensacyjna, która wywołać może częściową hemolizę. Celem uniknięcia tego, poleca się kolbkę przed zbieraniem krwi nagrzać do temperatury ciała, a podczas brania krwi omywać ścianki kolbki nagrzanym szczawianem. Krew wirujemy zazwyczaj w przeciągu 15—20 minut, przytem probówki wirówkowe uprzednio się ogrzewa. Po 20 minutach zbieramy osocze i wirujemy je powtórnie w przeciągu 30—50 minut. Zebrane w ten sposób osocze powinno być słabo zabarwione na żółto bez odcienia czerwonego, wywołanego hemoglobiną. By osocze otrzymane mogło nam służyć jako fibrinogen, rozcieńczamy je mieszaniną szczawianu sodu i roztworu fizjologicznego: na 1 część osocza bierzemy jedną część 1% szczawianu sodu i 3 części roztworu fizjologicznego.

Serozym, potrzebny do reakcji, przygotowujemy z osocza, dodając do 10 cm³ osocza szczawianowego 1,2 cm³ 1%-go roztworu chlorku wapnia. Skłócamy i wstawiamy do cieplarki, dopóki osocze nie skrzepnie. Skrzep tworzy się zazwyczaj po 5—10 minutach. Wyciskamy skrzep długą pincetą i otrzymujemy przezroczystą surowicę. Surowicę tę pozostawiamy jakiś czas, przynajmniej pół godziny, w temperaturze 37°, gdyż zawiera jeszcze trombinę i następnie, na godzinę przed użyciem rozcieńczamy ją pięciokrotnie roztworem fizjologicznym.

Jako soli wapniowych używaliśmy chlorku wapnia w roztworze fizjologicznym; na 100 cm³ roztworu fizjologicznego braliśmy 5 cm³ 1%-go roztworu $CaCl_2$. Jako cytozym służył nam, według metody podanej przez Hirszfelda i Klingera, wyciąg alkoholowy z serca świnki morskiej: antygen, używany do odczynu Wassermana (Wyrobu Mercka). Używaliśmy cytozymu rozcieńczonego sześćdziesięciokrotnie roztworem fizjologicznym, ten bowiem dawał rezultaty najbardziej widoczne.

bez neosalwarsanu — probówka ta była dla nas wskaźnikiem, jak szybko krzepnie osocze pod wpływem normalnie wytworzonej t r o m b i n y.

Rezultaty przedstawia tablica I.

Obserwacja ciągła probówek trwała 30 minut, poczem pozostawiono je do dalszych badań do dnia następnego.

Z tablicy I widzimy, że po dodaniu neosalwarsanu do cytozymu działanie hamujące neosalwarsanu na krzepnięcie krwi jest bardzo silne; w stężeniu tak słabem, jak 0,025%, krzepnięcie krwi zostaje zahamowane w tym stopniu, że nawet po 18 godzinach nie można zauważyć skrzepu, gdy tymczasem kontrola daje nam zjawisko krzepnięcia już po jednej minucie.

Z kolei badaliśmy wpływ neosalwarsanu na drugi czynnik, niezbędny przy krzepnięciu krwi, na serozym, otrzymany drogą, którą już wskazaliśmy, z osocza szczawianowego. Postępowaliśmy w ten sam sposób, jak z cytozymem. Do możliwie jednakowych probówek, ustawionych rzędem, nalewaliśmy po 0,5 cm³ serozymu, dodawaliśmy po 0,1 cm³ salwarsanu rozmaitego stężenia i pozostawialiśmy serozym pod wpływem neosalwarsanu w przeciągu 15 minut; dodawaliśmy następnie po 0,1 cm³ cytozymu w stężeniu 1 : 60 i 1 cm³ roztworu chlorku wapnia. Przeczekawszy 15 minut, czas niezbędny dla wytworzenia się trombiny, dolewaliśmy do każdej probówki po 1 cm³ osocza szczawianowego i, przez lekkie pochylanie probówki, obserwowaliśmy moment tworzenia się skrzepu. Obserwacja ciągła trwała 30 min.; dla dalszych obserwacyj pozostawialiśmy probówki do dnia następnego

Z przytoczonych liczb widzimy, że gdy poddajemy serozym działaniu neosalwarsanu, proces krzepnięcia krwi podlega silnemu zahamowaniu; neosalwarsan, w stężeniu 0,5%, działa w tym stopniu, że krew nie krzepnie nawet po 18 godzinach. Porównywując tablicę II z tablicą I możnaby wnioskować, że działanie neosalwarsanu na cytozym jest silniejsze, niż na serozym; jeżeli zaś uwzględnimy różnicę stężeń (w badaniach nad serozymem braliśmy 0,1 cm³ salwarsanu na 0,5 cm³ serozymu), różnic żadnych w działaniu hamującem skonstatować nie będziemy mogli.

Badaliśmy dalej wpływ neosalwarsanu na wytworzoną trombinę. Postępowaliśmy w sposób następujący. W szeregu probówek wytwarzaliśmy trombinę; do każdej z probówek wprowadzaliśmy po 0,1 cm³ cytozymu w zwykłem stężeniu, stosowanem w tej pracy, po 0,5 cm³ serozymu i po 1 cm³ roztworu chlorku wapnia Czekaliśmy następnie 15 minut, okres czasu, w ciągu którego wytwarza się trombina, dodawaliśmy po 0,1 cm³ neosalwarsanu w rozmaitych stężeniach i notowaliśmy czas niezbędny dla wytworzenia się skrzepu. Rezultaty otrzymane podajemy w tabl. III. Z tablicy tej widzimy że, wytworzona trombina nie zatraca pod wpływem neosalwarsanu zdolności zamieniania fibrinogenu na fibrinę i że jedynie zdolność ta staje się w nieznacznym stopniu zahamowaną. Zestawienie liczb, przez nas otrzymanych, wskazuje, że cytozym, zarówno jak serozym, poddany działaniu neosalwarsanu, traci zdolność zamieniania fibrinogenu na fibrinę, tymczasem gdy wytworzona trombina, poddana działaniu neosalwarsanu, w tych samych warunkach, tej zdolności nie zatraca. Stąd możemy przypuszczać, że neosalwarsan, w mechanizmie krzepnięcia krwi, działa w ten sposób, że albo n i s z c z y c y t o z y m

TABLICA I.

Działanie salwarsanu na cytozym w ciągu 15 minut.

Neo-salwarsan	5%	2,5%	1,75%	1,25%	1%	0,75%	0,5%	0,25%	0,2%	0,175%	0,15%	0,125%	0,1%	0,075%	0,05%	0,025%	Kontrola
Cytozym 1:60	nie ścięło się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. sią po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	ścięło się po 18 g.	ścięło się w przec. 18 g.	1 m.

TABLICA II.

Działanie salwarsanu na serozym.

Neo-salwarsan	5%	2,5%	1,75%	1,25%	1%	0,75%	0,5%	0,25%	0,2%	0,175%	0,15%	0,125	0,1%	0,075	0,05%	0,025%	Kon-
Cytozym 1:60	nie ścięło się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	n. śc. się po 18 g.	ścięło się w przec 18 g.	ścięło się po 8′	7′	5′	2′	2′	2′	2′	2′	1′

TABLICA III.

Wpływ salwarsanu na wytworzoną trombinę.

Neo-salwarsan	1,25%	1%	0,75%	0,5%	0,25%	0,2%	0,175%	0,15%	0,125%	0,1%	0,075%	0,05%	0,025%	Kontrola
Skrzep wytworzył się	22′	16′	13′	6′	3′	3′	3′	2′	1′	1′	1′	1′	1′	1′

lub serozym, albo sprzeciwia się ich połączeniu; tą jego właściwością można też objaśnić zjawisko niekrzepliwości krwi podwpływem salwarsanu.

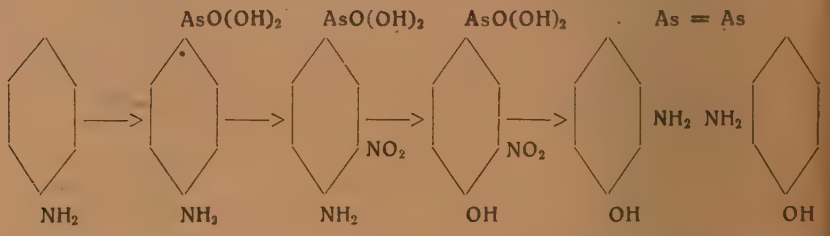
Wspomnieć należy o wyczerpujących pracach *Gratia* [2]), dotyczących antytrombiny. W pracach tych autor objaśnia mechanizm działania niektórych antytrombin, ciał hamujących krzepnięcie krwi, nie tyle zdolnością tych ciał do zobojętniania tworzącej się trombiny, ile zdolnością do uniemożliwiania tworzenia się jej. *Gratia* dowodzi, że działanie antytrombiny jest tem silniejsze, im oddziaływa ona na wcześniejsze stadja koagulacji krwi. *Gratia* podaje, że hirudyna, aby zobojętniła pewną ilość trombiny, musi być użyta w stężeniu 1 : 500. Chcąc podziałać hamująco na wcześniejsze stadja mechanizmu krzepnięcia, na proces łączenia się cytozymu i serozymu, wystarczy roztwór hirudyny 1 : 10.000. Zahamowanie procesu zamiany proserozymu na serozym osiągnąć można roztworem hirudyny 1 : 20.000.

Z doświadczeń naszych widzimy, że neosalwarsan działa hamująco na krzepnięcie krwi, nie tylko in vivo, jak się to dzieje pod wpływem peptonu, ale też po za ustrojem zwierzęcym.

Stwiedziwszy wybitny wpływ neosalwarsanu na krzepnięcie krwi, staraliśmy się wyjaśnić, czy neosalwarsan zawdzięcza zdolność hamującą swym składnikom chemicznym, czy też ich ugrupowaniu. Rozporządzając, dzięki uprzejmości krajowych fabryk, wszystkiemi produktami przejściowemi w fabrykacji neosalwarsanu, zbadaliśmy wpływ tych produktów na cytozym; staraliśmy się przytem o zachowanie warunków izotonicznych, używając do rozcieńczenia substancyj roztworu fizjologicznego.

Technika pracy była taka sama, jaką opisywaliśmy kilkakrotnie. Poddawaliśmy cytozym działaniu tych ciał w przeciągu 15 minut, a po dodaniu serozymu, soli wapniowych i fibrinogenu, obserwowaliśmy moment tworzenia się skrzepu.

Sposób wytwarzania neosalwarsanu jest następujący.



Wszystkie te produkty zostały przez nas zbadane w stosunku do wpływu ich na krzepnięcie krwi; zbadaliśmy też wpływ orthonitrofenolu, atoksylu, soli sodowej, kwasu oksyfenylarsynowego i rongalitu.

Rezultaty otrzymane zestawiamy na tabl. IV-ej

W badaniach nad wpływem kwasu nitroarsanilowego, kwasu nitrooksyfenyloarsynowego i salwarsanu, probówki były pod ciągłą obserwacją

TABLICA IV.

Działanie na cytozym:	5%	2%	1%	0,5%	0,1%	0,05%	0,01%	0,005%	0,001%	Kontrola
aniliny		10′	10′	10′	4′	4′	4′	4′	4′	4′
orthonitrofenolu		5′	5′	5′	5′	5′	5′	4′	4′	3′
kw. arsanilowego		10′	6′	4′	4′	4′	4′	4	4′	3′
atoksylu		10′	6′	4′	4′	4′	4′	4′	4′	3′
soli sodowej kwasu oksyfenylarsynow.		15′	15′	10′	4′	4′	4′	4′	4,	4′
rongalitu		5′	5′	5′	5′	5′	5′	5′	4′	4′
kwasu nitroarsanilowego	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 30′; skrzepło w przec. 20 g.	nie skrzepło po 30′; skrzepło w przec. 20 g.							3′
kwasu nitrooksyfenylarsynowego	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 30′; skrzepło w przec. 20 g.	nie skrzepło po 30′; skrzepło w przec. 20 g.							3′
Neosalwarsanu	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 20 g.	nie skrzepło po 20 g.	skrzepło w przeciągu 20 g.	skrzepło w przeciągu 20 g.	15′	2′	2′

w przeciągu 30'; celem dalszych obserwacyj, pozostawione były do dnia następnego. Z liczb podanych widzimy, że anilina, nitrofenol, atoksyl, sól sodowa kwasu oksyfenylarsynowego i rongalit nie mają żadnego wpływu na krzepnięcie krwi; skrzep w probówkach, w których cytozym był pod działaniem wymienionych ciał, tworzył się prawie jednocześnie z skrzepem w probówce „kontrolnej". Dla kwasów nitroarsanilowego i nitrooksyfenyloarsenowego stwierdziliśmy silne zahamowanie. Kwas arsanilowy żadnego wpływu, jak to widzimy z tablicy powyższej, niema, kwas nitroarsanilowy zaś, który różni się od poprzedniego tylko grupą *nitro*, wybitnie hamuje krzepnięcie krwi; z zjawiska tego możemy wnioskować, że czynnikiem hamującym krzepnięcie krwi, jest wprowadzona grupa *nitro*. Do tej samej hipotezy upoważnia nas różnica w zachowaniu się kwasu nitrooksyfenyloarsynowego i soli sodowej kwasu oksyfenyloarsynowego; te dwa ciała różnią się tylko obecnością grupy *nitro*.

W czasach obecnych prowadzone są wielostronne badania nad neosalwarsanem. Kryczewski opisał własności aglutynacyjne i precypitacyjne neosalwarsanu; sądzi on, że neosalwarsan ma zdolność zmieniania fizykalnych właściwości roztworów koloidalnych; być może, że w tych właściwościach neosalwarsanu należy doszukiwać się wpływu jego na koagulację krwi.

Gdy praca ta była już ukończona, we wrześniu 1921 r., zapoznaliśmy się z pracą Ch. Flaudin'a i A. Tranck'a. Autorzy stwierdzają istnienie wpływu hamującego związków arsenobenzolowych na krzepnięcie krwi, nie przeprowadzając dokładniejszej analizy fizjologicznej i chemicznej.

PIŚMIENNICTWO.

1. Hirszfeld i Klinger. Deutsche Medic. Wochen. 1914 № 34. Semaine Medicale 1914, № 34.

2. Dr. André Gratiá. Annales de l'Institut Pasteur, Aout 1921 Recherches sur le mécanisme des actions anticoagulantes.

3. Kryczewski. Biochemische Zeitschrift 126, r. 1921.

4. Ch. Flandin et A. Franck. Comptes rendus des Seances de la Société de Biologie, 22 Janvier 1921.

Institut des Recherches Sérologiques
(Directeur Dr. L. Hirszfeld).

Sur l'influence anticoagulante du Arsenobenzol.

Par

Dr. EMILIE HELMAN.

RÉSUMÉ.

Nous avons constaté l'action anticoagulante très prononcée du néosalvarsan. L'expérience faite in vivo sur le lapin, auquel on a injecté une solution de 10% de néosalvarsan en raison de 2 ccm. par kilo de son poids, démontre que son sang ne coagule pas même après 3 jours. En se servant des méthodes de travail de Bordet et Delange, modifiés par *Hirszfeld* et *Klinger*, nous avons étudié l'influence du néosalvarsan sur les trois substances fondamentales de la coagulation du sang, à savoir: sur le cytozyme, sur le sérozyme, et sur la thrombine. Le néosalvarsan mis en contact pendant 15 minutes avec le cytozyme de même qu'avec le sérozyme ralentit d'une manière notable la coagulation du sang: ainsi 0,1 ccm. de néosalvarsan à 0,075% mis en contact pendant 15 minutes avec 0,1 ccm. du cytozyme ne donne pas de coagulation même après 18 heures. La même quantité de néosalvarsan mise en contact avec la thrombine ralentit la coagulation d'une manière peu appréciable, ce qui nous autorise à supposer que le néosalvarsan détruit le cytozyme et le sérozyme ou bien qu'il paralyse la production de la thrombine. Nous avons étudié aussi les rôles des éléments constitutants du néosalvarsan. L'aniline, le nitrophenol, l'oxyphenyloarsenate de soude, et le rongalite n'exercent aucune influence sur la coagulation du sang. Les acides nitroarsenilique et nitroxyphenyloarsenique empèchent également la coagulation. L'acide arsanilique n'exerce aucune influence, l'acide nitroarsanilique au contraire empêche la coagulation, ce qui permet de supposer que le groupe nitro est la cause de ce phénomène. La différence de la manière d'agir de l'acide nitrooxyphenyloarsique et du oxyphenyloarsenate de soude donne aussi lieu à cette hypothèse. Le néosalvarsan ayant une influence plus destructive que les produits intermédiaires de la fabrication il faut admettre l'existence d'autres causes encore inconnues.

NOTATKA LABORATORYJNA

Z Państwowego Zakładu Epidemjologicznego w Łodzi.
(Kierownik prof. D-r F. Venulet).

O odczynach Widala i Weila-Felixa w durze powrotnym.

Podała

L. KOPCIOWSKA.

St. asystentka.

Dodatni odczyn *Widala*, zwłaszcza po szczepieniach ochronnych w różnych zakażeniach, ogranicza, jak wiadomo, jego znaczenie rozpoznawcze. Najbardziej powikłaną przedstawia się sprawa odczynu *Widala* w durze plamistym. Jak wykazały badania, przeprowadzone w naszym Zakładzie, dodatni odczyn *Widala* w durze plamistym bywa albo swoisty (po przebytym durze brzusznym lub po szczepieniu ochronnem), albo nieswoisty, powodowany zdolnością wieloaglutynacyjną surowic osób, chorych na dur plamisty (*Weyland* i *Venulet*). Co się tyczy odczynu *Weila-Felixa*, to, nie będąc swoistym w ścisłem znaczeniu tego słowa, jest on dla duru plamistego wysoce charakterystyczny, zwłaszcza gdy osięga miana 1 : 200. Bezwzględnej pewności co do istoty choroby odczyn *Weila-Felixa* jednak nie daje; w kilku przypadkach klinicznie niezawodnej grypy zauważyliśmy silną reakcję *Weila-Felixa* u chorych, którzy duru plamistego nie przechodzili. Na pewne powinowactwo surowic w tych chorobach wskazywałaby również okoliczność, iż podług naszych badań, tak durowi plamistemu, jak i grypie, dość często towarzyszy dodatni, a również nieswoisty, odczyn *Wassermana*. Pozatem obserwowaliśmy dwukrotnie wybitny odczyn *Weila-Felixa* w chorobie *Weila*. Z drugiej strony odczyn *Weila-Felixa*, w porównaniu z odczynem *Widala*, o wiele trudniej poddaje się wpływowi obcych bodźców i tylko u osobników, które dur plamisty przechodziły.

Wobec tego 1), że swoisty odczyn *Widala* łatwo się odnawia pod wpływem różnych infekcyj, występując niekiedy nawet w postaci nieswoistej, 2) że odczyn *Weila-Felixa* może występować i w innych, po za durem plamistym, chorobach zakaźnych—zachowanie się powyższych odczynów w durze powrotnym zasługuje na uwagę nietylko ze względów teoretycznych, lecz i praktycznych.

Korzystamy z materjału, otrzymanego w czasie od października 1920 r. do marca b. r., kiedy, jednocześnie z preparatami krwi na krętki

duru powrotnego, nadsyłano surowicę tych samych chorych dla dokonania odczynów *Widala* i *Weila-Felixa*. Ogólna ilość tego rodzaju potrójnych badań wynosiła 270. Z nich w 85 przypadkach krętków nie wykryto, a wyniki serologiczne były ujemne. W 66 przypadkach również nie znaleziono krętków, natomiast odczyn *Widala* był dodatni 34 razy, *Weila-Felixa* 32 razy. Obecność krętków *Obermeyera* we krwi stwierdzono w 119 przypadkach; z wyjątkiem 5 przypadków, do których wrócimy jeszcze, durowi powrotnemu ani razu nie towarzyszył dodatni odczyn *Widala* lub *Weila-Felixa*, najwyżej notowaliśmy ślady aglutynacji, w rozcieńczeniach 1 : 50 i 1 : 100. Ponieważ materjał powyższy dotyczy żołnierzy, szczepionych przeciwko durowi brzusznemu, należy przypuścić, że zakażenie krętkami *Obermeyera* nie jest bodźcem dostatecznym dla wywołania aglutynin tyfusowych. Zatem więc surowica chorych na dur powrotny zachowuje się obojętnie względem laseczek tyfusu i odmieńca X_{19}. Wobec tego zaś, że próba *Widala* wypadła dodatnio (1 : 200) tylko w 3 przypadkach duru powrotnego, a próba *Weila-Felixa* w 2 (1 : 400,), należy przypuszczać, że występuje tu infekcja mieszana albo iż chorzy ci przedtem przechodzili dur plamisty lub tyfus brzuszny. Na możliwość istnienia mieszanej infekcji duru powrotnego i duru plamistego lub duru brzusznego wskazuje kilka wzmianek w piśmiennictwie (*Martini, Walko, Kirkovic* i inni). Danych klinicznych, dotyczących 5 powyższych chorych, niestety, nie posiadamy. W innym natomiast przypadku duru powrotnego z ujemnym odczynem *Widala* wyhodowaliśmy laseczkę tyfusu ze krwi; według orzeczenia lekarza przebieg choroby był również charakterystyczny dla tyfusu. Przypadek *Kaysera*, dotyczący żołnierza, chorego na dur powrotny, który jednocześnie miał dodatni odczyn *Weila-Felixa*, zdaje się potwierdzać drugą możliwość, gdyż, sądząc z wywiadów, chory przechodził kilka tygodni wcześniej dur plamisty. Tu wspomnieć można, że w szeregu preparatów krwi chorych, podejrzanych o dur powrotny, znalezione zostały pasorzyty zimnicy.

WNIOSKI.

1) Dur powrotny, w przeciwieństwie do innych infekcyj, zwłaszcza do duru plamistego, nie powoduje odnawiania się odczynu *Widala* po dawno przebytym durze i u szczepionych przeciwko durowi.

2) Dodatni odczyn *Widala* lub *Weila-Felixa* w durze powrotnym spotyka się, albo w razie mieszanych infekcyj, albo po dopiero co przebytym durze brzusznym lub plamistym.

3) Jednoczesne badanie preparatów krwi i dokonanie powyższych odczynów serologicznych przyśpiesza rozpoznanie w przypadkach wątpliwych.

PIŚMIENNICTWO.

1. Weylandówna i Venulet. Przegl. Epidem. 1920. I. 38.
2. Kayser. Berl. Kl. Woch. 1920 57. 129.
3. Martini. Centr. f. Bakt.-Ref. 1919. 68. 18.
4. Walko. Wien. Kl. Woch. 1915. 28. 197.
5. Kirkovic, Stojanu. Aletieff. Centr f. Bakt. Ref. 1919. 68. 503.

O uodpornianiu drogą pokarmową

Podał

Dr. STANISŁAW SIERAKOWSKI.

Zastępca dyrektora Państ. Zakładu Epidemjologicznego.
Kierownik Działu Szczepionek.

Stosowane obecnie uodpornianie przeciw durowi brzusznemu, cholerze i czerwonce drogą pokarmową opiera się na nowych spostrzeżeniach nad mechanizmem zakażania się temi bakterjami. *Besredka* wykazuje, że jeżeli królikowi zastrzyknąć do żyły żywe bakterje czerwonkowe, to zwierzę, po pewnym czasie, pada; na sekcji znajdujemy bakterje czerwonkowe jedynie w obrębie przewodu pokarmowego, gdzie rozmnażają się one obficie, rugując zupełnie normalną florę jelitową. We krwi, w moczu, oraz w innych narządach niema zupełnie bakteryj czerwonkowych. Jeżeli zastrzykniemy królikowi bakterje czerwonkowe podskórnie, otrzymujemy ten sam skutek. Z tych spostrzeżeń autor wyciąga wniosek, że tkanką, wrażliwą na zakażenie bakterjami czerwonkowemi, są jelita.

Masaki wykazuje to samo dla cholery. Wibrjony cholery, zastrzyknięte królikowi do żyły, znikają ze krwi już po 10 godzinach, natomiast w jelitach można je znaleść znacznie dłużej. W zastrzyknięciach podskórnych wibrjony cholery występują również w jelitach.

Sanarelli wykazał, że świeżo urodzone szczenięta, które nie ssały jeszcze ani razu mleka matki, są wrażliwe na zakażenie cholerą drogą pokarmową. W tym wypadku wibrjony cholery nie mogą przejść wprost do jelit przez żołądek, który reaguje kwaśno, lecz dostają się do nich drogą okólną. Z górnych odcinków drogi pokarmowej wibrjony przechodzą do krwi, stąd do jelit, gdzie mnożą się nadzwyczajnie i powodują śmierć zwierzęcia.

Z tych badań wynikałoby, że bez względu na to, jakie są wrota zakażenia, zarazek koncentruje się przede wszystkiem na błonie śluzowej jelita. Tam zarazki mnożą się obficie; jeżeli jednak znajdują się przytem we krwi i w innych narządach, jak w paratyfusie albo tyfusie brzusznym, to w ilości o wiele mniejszej.

Królików i świnek morskich nie można zakazić *per os* tyfusem, paratyfusem i cholerą. *Besredka* starał się wynaleść sposób, któryby obniżył tę naturalną odporność królików. Okazało się, że podając tym zwierzętom żółć wołową *per os* można sprawić, że zapadają one na paratyfus. Jakie przytem zachodzą procesy, z całą pewnością niewiadomo, musimy się jednak liczyć z następującemi rzeczami: 1) żółć wprowadzona sprzyja rozwojowi bakteryj

paratyfusowych i tyfusowych, 2) pobudza wydzielanie się żółci zwierzęcia nią karmionego, 3) powoduje wielkie złuszczanie się nabłonka jelitowego i umożliwia łatwiejsze wessanie się zarazka. Króliki, uczulone żółcią, zapadadają na paratyfus i cholerę, nie tylko przy podawaniu tych zarazków *per os*; wywołujemy również zakażenie, jeżeli zastrzykujemy zarazki do krwi lub pod skórę.

Jeżeli jelita są tkanką najbardziej wrażliwą na zakażenie czerwonką, cholerą i durem brzusznym, to, żeby uchronić organizm od zakażenia, należałoby przedewszystkiem starać się o uodpornienie jelit. W czerwonce udało się to w zupełności. Podając królikowi *per os* zabite bakterje czerwonkowe, *Besredka* zdołał uodpornić błonę śluzową jelit na tyle, że króliki, traktowane w ten sposób, stawały się niewrażliwe nawet na duże dawki żywych, zjadliwych bakteryj czerwonkowych (podawanych zarówno *per os*, jako też zastrzykiwanych do żyły lub podskórnie).

Wiemy już, że królików i świnek morskich, nieuczulonych żółcią, nie można zakazić bakterjami paratyfusu, tyfusu, cholery, podając im je *per os*. Okazało się, że zwierząt tych nie można również uodpornić zabitemi zarazkami, podawanemi *per os*. Jeżeli natomiast zwierzęta te uczulić najpierw żółcią, to można je następnie uodpornić drogą *per os* zarazkami zabitemi. A zatem, i w tym wypadku mechanizm zakażania i mechanizm uodporniania idą w parze. Jak wiadomo, po zastrzyknięciu szczepionek podskórnie, po pewnym czasie powstają we krwi przeciwciała, w postaci aglutynin, bakterjolizyn i t. d. Przy uodpornianiu królików przeciw czerwonce drogą *per os* nie otrzymujemy we krwi żadnych przeciwciał. To samo zjawisko obserwujemy przy uodpornianiu drogą *per os* przeciwko tyfusowi, paratyfusowi i cholerze. Przeciwciał we krwi niema zupełnie albo są bardzo nieznaczne pomimo, że zwierzęta stają się odporne przeciwko tym zarazkom.

A zatem, zwierzęta doświadczalne można uodpornić przeciwko czerwonce, cholerze, paratyfusowi, tyfusowi, podając drogą pokarmową zabite zarazki. Uodporniając przeciwko cholerze, paratyfusowi i tyfusowi zwierzęta trzeba przedtem uczulić żółcią.

Nasuwa się pytanie, czy nie możnaby tego sposobu uodpornienia zastosować do ludzi. Mechanizm zakażania się ludzi czerwonką, tyfusem, paratyfusem i cholerą jest prawdopodobnie taki sam, jak u zwierząt, a więc uodpornienie drogą *per os* powinno się udać.

Besredka zapytuje przedewszystkiem, czy zachodzi potrzeba zmiany przyjętego obecnie sposobu stosowania podskórnie szczepionek ochronnych. Autor ten odpowiada na to pytanie twierdząco, ponieważ szczepienie podskórne nie daje zupełnej odporności, gdyż pewien, zresztą nieznaczny, procent osób szczepionych podskórnie, nawet 3 i 4 razy, zapada na daną chorobę. *Besredka* twierdzi, że odporność przeciw tyfusowi brzusznemu, nabyta wskutek przebycia tej choroby, jest znacznie większa, niż nabyta drogą szczepienia podskórnego. Korzystając z dużej epidemji duru brzusznego w Argonach, *Besredka* zbierał wywiady od chorych z objawami tyfoidalnemi, czy nie przechodzili kiedyś duru brzusznego. Tego rodzaju chorych, którzy dur przechodzili, okazało się 200 (brano pod uwagę

tylko takie wypadki, w których djagnoza była postawiona na zasadzie dodatniego wyniku posiewu krwi. Okazało się, że wśród tych 200 osób, które zgłosiły się po raz drugi z objawami tyfoidalnemi, nie było ani jednego duru brzusznego, lecz jedynie paratyfusy A lub B oraz inne sprawy gorączkowe. Z tego wynikałoby, że odporność, nabyta po chorobie, jest zupełniejsza, niż po szczepieniu podskórnem. Przy szczepieniu podskórnem mamy do czynienia z uodpornieniem ogólnem, po chorobie, oprócz ogólnego, mamy niewątpliwie uodpornienie lokalne błony śluzowej jelit. Przy uodpornianiu *per os* mamy do czynienia przedewszystkiem z uodpornieniem lokalnem.

Opierając się na danych, przytoczonych powyżej, *Besredka* przyrządził szczepionki w pastylkach, zawierające 0,05 gr. bakteryj zabitych i wysuszonych. Pastylki te zaleca spożywać na czczo trzy razy, dzień po dniu. Jeżeli chodzi o uodpornienie przeciwko cholerze, tyfusowi i paratyfusowi, *Besredka* poleca zażywać równocześnie pigułki z żółci wołowej wysuszonej. Szczepionki te nie wywołują żadnej reakcji, nie wymagają żadnej specjalnej djety, ani zmiany trybu życia.

Zalety tych szczepionek, w porównaniu ze szczepionkami, stosowanemi podskórnie, są następujące: stosowanie ich jest bezbolesne, nie wywołuje żadnej reakcji, nie wymaga pomocy lekarza, ani specjalnych instrumentów i t. p.

W literaturze naukowej, oprócz licznych doświadczeń na zwierzętach, mamy już kilka spostrzeżeń z uodpornianiem ludzi drogą *per os*. *Vaillant*, podczas epidemji tyfusu brzusznego w Calais, uodporniał ludzi przeciwko durowi brzusznemu podskórnie i *per os*. Wyniki otrzymał następujące:

Na 600 osób, nieszczepionych zupełnie, było 7,7% zachorowań
„ 173 osoby, szczepione podskórnie, było 2,3% „
„ 1236 osób, uodpornianych *per os* 0,17% „

A więc, szczepienie drogą *per os* dało znacznie lepsze wyniki, niż zastrzykiwanie podskórne.

Nicolle i Conseil wykonali zupełnie ścisłe doświadczenia na ludziach z uodpornieniem przeciw czerwonce drogą *per os*. Dwoje ludzi (ochotników) uodpornili przeciwko czerwonce, podając im *per os* zabite bakterje czerwonkowe; następnie, po 2 tygodniach, dano im również *per os* dużą ilość żywej zjadliwej hodowli bakteryj czerwonkowych. Dla kontroli dano dwum osobnikom (również ochotnikom), którzy nie byli przedtem uodpornieni, taką samą dawkę żywych bakteryj. Ludzie, którzy byli uodpornieni *per os*, nie zapadli na czerwonkę i nie mieli żadnych objawów, natomiast osoby, użyte jako kontrolne, zapadły na czerwonkę z typowemi objawami klinicznemi. Z tego wynikałoby, że drogą *per os* można ludzi uodporni przeciwko czerwonce.

PIŚMIENNICTWO.

1. Besredka Ann. Past. 33. 1919 301.
2. „ „ „ 33. 1919. 557.
3. „ „ „ 33. 1919. 882.
4. „ Bull. de l'Instit. Past. 18. 1920, 121.
5. Masaki. Ann. Past. 36. 1922. 399.
6. Sanarelli. „ „ 36. 1922. 386.
7. Vaillant. „ „ 36. 1922. 149.
8 Nicolle i Conseil. Ann. Past. 36. 1912.

ZJAZD NAUKOWY

pracowników Państwowego Zakładu Epidemjologicznego i Państwowego Zakładu Badania Surowic w Warszawie, dn. 17 czerwca 1922 roku.

Zjazd zagaił Dyrektor Państwowego Zakładu Epidemjologicznego *Dr. L. Rajchman*, zaznaczając, że zwołany on został celem przedstawienia prac naukowych, wykonywanych w tej chwili w pracowniach warszawskich obu Instytucyj i w filjach i oddziałach prowincjonalnych Zakładu Epidemjologicznego. Ma on też służyć porozumieniu między badaczami, pracującymi częstokroć nad zagadnieniami zbliżonemi, nawiązaniu między nimi kontaktu oraz wspólnemu omówieniu najważniejszych obecnie spraw naukowych, interesujących epidemjologa i bakterjologa. Zjazdowi przewodniczył *Dr. L. Rajchman*, sekretarzowali: *Doc. Dr Gieszczykiewicz* z Krakowa i *Dr. Helena Sparrow* z Warszawy. W Zjeździe, jako goście, wzięli udział kierownicy i pracownicy licznych instytucyj naukowych warszawskich oraz przybyły na Zjazd Minister Zdrowia, *Dr. Chodźko*. Na Zjeździe wygłoszono szereg referatów; ponadto, z powodu braku czasu, kilka referatów spadło z porządku i zostało przedstawionych dnia następnego na specjalnem Zebraniu Referatowem P. Z. E. Referaty, wraz z dyskusją, podajemy tu w streszczeniu.

Serodjagnostyka kiły.

Z. Modrzewska i Z. Milińska.
(Sprawozdawca L. Hirszfeld).
Odczyny Sachsa-Georgiego i Meinikego.

Praca ta, dotycząca odczynów precypitacyjnych, została wykonana z polecenia komitetu Higjeny Ligi Narodów, w związku z ankietą, którą przeprowadza obecnie ten komitet w sprawie odczynu *Wassermana*. Celem ankiety ma być ustalenie znaczenia rozpoznawczego odczynów precypitacyjnych ujednostajnienie wyników, otrzymywanych dotąd i opracowanie obowiązującego wzorca. Zakłady, biorące udział w ankiecie, prowadzą badania podług wspólnie omówionego planu, korzystając przytem z oryginalnych antygenów autorów.

Zasada odczynów precypitacyjnych w rozpoznawaniu kiły polega na wytrącaniu lipoidów przez surowicę kiłową. Lipoidy muszą być uprzednio

wprowadzone w stan chwiejności. *Sachs* i *Georgi* czynią to przez dodanie cholesteryny. W metodzie *Meinikego* dodajemy do wyciągów lipoidowych pewnej ilości wody destylowanej. Jak zauważył *Meinike*, drobny ten zabieg wprawia w stan chwiejności lipoidy tak, że później, pod wpływem surowic kiłowych, wypadają one w formie makroskopowo widocznych kłaczków. *Meinike* używa roztworów hipertonicznych, *Sachs* i *Georgi* płynów izotonicznych.

Badania nasze wykazały zbędność hipertonji podczas użycia surowic nieczynnych, co równocześnie wykazał też *Georgi*. Otrzymaliśmy lepsze wyniki, używając surowicy w ilości 0,2 (jak to czyni *Meinike*). Ponieważ i *Sachs* w międzyczasie powiększył dawki surowicy, przeprowadzaliśmy wszystkie doświadczenia z zwiększoną jej ilością. Zadaniem naszem było nietylko stwierdzenie swoistości, ale i zbadanie możności miareczkowania. Zapisywaliśmy w tym celu dokładnie stopień dodatniości. Zbadaliśmy metodą *Sachsa* i *Georgiego* 3500 przypadków, metodą *Meinikego* 3100. Liczba wyników niezgadzających się wynosiła, w stosowaniu metody *Sachsa* 3,9%, metody *Meinikego* 3,6%. Badania zatem potwierdzają w zasadzie swoistość odczynu. Co się tyczy równoległości w nasileniu, to istnieje ona, choć nie bezwzględnie. 70% surowic, dających odczyn *Wassermana* + + +, daje również mocny odczyn *Sachsa-Georgiego*. Jeśli odczyn *Wassermana* jest + +, to około 60—80% surowic daje również w odczynie *Sachsa-Georgiego* + albo + +; jeśli odczyn *Wassermana* jest +, to 70 — 80% odczynów *Sachsa-Georgiego* wypada również + lub ± i t. d.

Stosując odczyn *Meinikego*, zauważamy równoległość jedynie w wypadkach silnej dodatniości. Wobec odczynu *Wassermana* + +, 36% surowic wykazuje jedynie ±. Odczyn *Meinikego* jest również swoisty, jak i *Sachsa-Georgiego*, kłaczki jednak są drobniejsze, co utrudnia odczytanie i stwarza tak dużą ilość słabo dodatnich przypadków.

Badania wykonywane były zarówno z wyciągami, przygotowanemi przez nas, jak i z wyciągami oryginalnemi, przysłanemi nam przez autorów. Metoda *Sachsa-Georgiego* z naszym wyciągiem dała 3,9% niezgadzających się przypadków, z wyciągiem oryginalnym 10%; mianowicie, 102 przypadki z odczynem *Wassermana* dodatnim, dały wynik z wyciągiem oryginalnym ujemny, tymczasem gdy jedynie 21 przypadków z naszym odczynem były ujemne. To znaczy, że 17% odczynów *Wassermana*, które były u nas dodatnie, dają z wyciągiem oryginalnym wyniki ujemne. Podobne doświadczenie zrobiliśmy z wyciągiem *Meinikego*. W ten sposób dochodzimy do wniosku, że metoda *Wassermana* u nas daje wyniki czulsze, niż w pracowni w Heidelbergu. Widzimy równocześnie, że metody precypitacyjne, dające możność łatwego miareczkowania, nadają się dla ujednostajnienia metod serodjagnostyki kiły. Cel ankiety Komitetu Ligi Narodów byłby zatem osiągnięty.

Nie sądzimy jednak, by metody precypitacyjne mogły zastąpić odczyn *Wassermana*. Odczytywanie słabo dodatnich przypadków jest trudne i mniej pewne, niż w odczynie *Wassermana*. Nie możemy też nigdy być pewni, że pewien stopień dodatniości w odczynie *Wassermana* można będzie wyrazić przez odpowiednie miano precypitacyjne.

Eisenberg utrzymuje, że metoda *Meinikego* jest równoważna z metodą *Wassermana*, a nawet od niej jest czulszą. Są takie przypadki, zwłaszcza kiły leczonej, w których odczyn *Wassermana* już ustąpił, a odczyn *Meinikego* jeszcze istnieje. Pozatem odczyn *Meinikego* służy do potwierdzenia odczynu *Wassermana*.

Venulet przypomina, że Łódzka Pracownia Epidemjologiczna pierwsza wprowadziła metodę kłaczkowania. W sprawie równoważności obu metod zaznacza, że wszystko zależy od antygenów. Są antygeny, które przewyższają używane do odczynu *Wassermana*, i takie, które mu nie dorównują.

Hirszfeld potwierdza słuszność tych uwag i dodaje, że przy dobrze nastawionych antygenach odczyny *Wassermana*, *Meinikego* i *Sachsa* są równoważne.

F. Venulet.
O odczynie Wassermana z surowicą czynną.

Jednoczesne miareczkowanie surowicy luetycznej w stanie czynnym i nagrzanym wykazuje obecność większej ilości reagin w surowicy czynnej. Pomimo braku zasadniczej różnicy pomiędzy reaginami ciepłostałemi, a ciepłochwiejnemi, większość autorów uważa reaginy ciepłochwiejne za nieswoiste dla kiły. Wobec tego inaktywowanie surowic, które początkowo miało na celu wyłącznie niweczenie dopełniacza ludzkiego, uznano za niezbędne dla zniweczenia również reagin, nie wytrzymujących nagrzewania. Odczyn *Wassermana* z surowicą czynną o własnym dopełniaczu (surowica ludzka posiada z małemi wyjątkami dostateczną ilość dopełniacza) jest czulszy, gdyż często wyprzedza klasyczny odczyn *Wassermana* w pierwszym okresie kiły, dłużej utrzymuje się po przeprowadzonej kuracji, o wiele częściej występuje w kile utajonej i w kile systemu nerwowego. Do pewnego stopnia potwierdza to i odczyn *Meinickego*; niekiedy istotę sprawy wyświetla wyłącznie surowica czynna. Nadmiar dopełniacza, spowodowany dodaniem do czynnej surowicy ludzkiej surowicy świnki, może okazać się szkodliwym; ludzie zdrowi reagują stale ujemnie. Nieswoiste zahamowanie hemolizy spotykamy niekiedy w gruźlicy i w sprawach nerkowych. Odczyn *Wassermana* z surowicą czynną należy wykonywać równolegle z odczynem klasycznym.

Eisenberg zaznacza, że używał dawniej, wraz z prof. *Nitschem*, surowic u nieczynnionych przy 51°, dziś używa surowic nieogrzewanych. Metoda ta nie ustępuje metodzie oryginalnej, jest wygodniejsza, a w pewnych przypadkach czulsza. Do surowicy czynnej należy jednak dodawać dopełniacza świnki morskiej.

Hirszfeld podkreśla, że odczyn *Wassermana* z surowicami nieczynnemi jest wyrazem innych stanów fizykalnych, niż odczyn *Wassermana* z surowicami czynnemi. W surowicach czynnych mogą, pod wpływem zakażenia bakteryjnego, wypadać globuliny i powodować odczyn dodatni nieswoisty.

Venulet otrzymywał czasem wyniki dodatnie, jedynie z własnym dopełniaczem. Ze względu na ujemny wpływ zanieczyszczenia, należy używać surowic świeżych; w zimie odczyn z surowicą czynną można wykonywać jeszcze po 2—3 dniach. Z metodą tą jako czulszą należy być ostrożniejszym, niż z metodami mniej czułemi. Gruźlica i zimnica mogą dawać zahamowania nieswoiste z surowicą czynną. Odczyn z surowicami ludzi zdrowych zawsze wypada ujemnie.

Dur plamisty.

Helena Sparrow.
Badania doświadczalne nad durem plamistym.

Żadnemu z licznych badaczy nie udało się dotąd wyhodować zarazka duru plamistego *in vitro*. W pracach doświadczalnych powszechnie używany jest jad duru plamistego, hodowany w małpach i świnkach morskich. Najłatwiej dostępnemi zwierzętami dla tych celów są świnki morskie, które na zakażenie jadem duru plamistego reagują stale i swoiście

Szczep duru plamistego, hodowany w Państwowym Zakładzie Epidemjologicznym, pochodzenia ludzkiego, otrzymano w styczniu 1921 roku i przeprowadzano go do końca roku przez świnki, na co zużyto 100 świnek. Szczep ten przeszedł 22 pasaże. W celu przeszczepiania jadu, zabijano świnki w 5-m—7-m dniu choroby. Do przeszczepiania używano tkanki mózgowej, roztartej w postaci zawiesiny w fizjologicznym rozczynie soli i wstrzykiwano 0.3 — 0.6 gr. świeżej substancji mózgowej w 1 — 2 cm^3 NaCl. Objawy chorobowe duru plamistego u zwierząt są znacznie łagodniejsze, niż u ludzi. Swoistość szczepu zwierzęcego stwierdzamy na zasadzie całego szeregu danych: okresu wylęgania (zazwyczaj 5—10 dni), krzywej temperatury (gorączka trwa zazwyczaj 6 — 10 dni), braku makroskopowych zmian anatomo-patologicznych, mikroskopowo widocznych swoistych schorzeń mózgu, odporności na powtórne zakażenie, dodatniego odczynu *Weila-Felixa* u królików, szczepionych zawiesiną mózgu (w rozcieńczeniu surowicy 1 : 320) po 8 — 14 dniach.

Królik i szczur na zakażenie zawiesiną mózgu przez podniesienie ciepłoty nie reagowały, lecz ich krew i narządy, po pewnym czasie wylęgania, stawały się zakaźne dla świnek morskich.

W przebiegu dalszych doświadczeń dwie małpy (*Macacus sinicus*), zakażone zawiesiną mózgu, wstrzykniętą do otrzewnej (0,6 gr.), nie zachorowały, a po upływie dwuch miesięcy okazały się odpornemi na zakażenie odwłóknioną krwią chorego (5 ccm. do otrzewnej).

Wyniki tych doświadczeń nasunęły przypuszczenie, że szczep duru plamistego, stale zjadliwy dla świnki, stracił swą zjadliwość dla małp i że ten osłabiony szczep może uodpornić małpę przeciwko zakażeniu jadem, pochodzącym bezpośrednio od człowieka.

Wyniki opisanych doświadczeń zachęciły mnie do wypróbowania zjadliwości jadu laboratoryjnego na człowieku. W tym celu zastrzyknęłem sobie pod skórę 0,3 gr. mózgu świnki morskiej 22-go pasażu, zabitej w 5-ym dniu choroby. Po 10 dniach wystąpiły objawy chorobowe. Przebieg choroby był typowy dla duru plamistego: gorączka powyżej 39°, wysypka w 5-ym dniu, dodatni odczyn *Weila-Felixa* w 9-ym dniu choroby (jeszcze w rozcieńczeniu 1 : 6400) ze szczepem OX_{19}; lityczny spadek ciepłoty nastąpił w 12 — 14 dniu. Ogólny przebieg choroby był lekki.

Z doświadczeń tych można wyciągnąć następujące wnioski:

1) Świnki morskie, zakażone krwią ludzi, chorych na dur plamisty, przechodzą rzeczywiście dur plamisty. 2) Szczep duru plamistego, przeszczepiony w ciągu roku przez świnki 22 razy, zachował w świnkach swą zjadliwość dla ludzi.

F. Eisenberg.
Badania doświadczalne nad durem plamistym.

Przez przeszczepianie krwi chorych na dur plamisty, we wstępnym okresie, wyhodowano 4 szczepy zarazka na świnkach morskich, z których jeden prowadzono przez 7 pokoleń, drugi przez 18, dwa pozostałe przez 19 pokoleń. Do zakażania używano zawiesiny mózgu i narządów wewnętrznych, jako też krwi zwierząt zakażonych, padłych lub skrwawionych i to drogą dootrzewnową lub domózgową. Ogół doświadczeń, wykonanych przeszło na 250 świnkach morskich, przekonał, że chodzi tu o typowe zakażenie, przy pewnych ostrożnościach przebiegające dość prawidłowo i charakterystycznie, o ile uwzględnić postulaty, niedawno skreślone przez *Olitsky'ego*. Okres wylęgania, w miarę wzrastającej liczby pokoleń, skraca się i ustala się się przy 4 — 6 dniach. Zakażenie przeważnie kończy się wyzdrowieniem, czasem, u zwierząt bardzo młodych lub przy współdziałaniu zakażeń mieszanych, śmiercią. U królików (ponad 50 doświadczeń) zakażenie przebiega bezobjawowo; jedynym, i to ważnym teoretycznie przejawem, jest występowanie odczynu zlepnego ze szczepami X_2 i X_{19}. W licznych doświadczeniach zostały potwierdzone wyniki *Weila* i *Felixa*, przyczem uzyskano miana zlepne od $^1/_{40}$ do $^1/_{1600}$. Nie można stąd jednak wyciągać wniosków daleko idących, jak czynią to *Weil* i *Felix*, w przeciwieństwie do innych objawów zlepnych, uzyskanych drogą zakażenia czy uodporniania, a także do odczynu, uzyskiwanego z krwią królików lub świnek morskich, uodpornianych zapomocą X_{19}. Tutaj miano nie daje się podnieść drogą ponownych zastrzyknięć zawiesiny mózgowej. Funkcja zlepna w tym wypadku jest ciepło-chwiejna (u królików uodpornionych zapomocą X_{19} ciepło-stała), a wreszcie nie udaje się w swoisty sposób związać zlepników przez zawiesinę mózgową. U świnek morskich rzadko stwierdzano odczyn zlepny $^1/_{20}$ — $^1/_{80}$, u owiec podobnie. Próby hodowli zarazka, w woreczkach kolodjonowych metodą *Kuczyńskiego* w otrzewnej królików i świnek morskich dały wyniki ujemne, podobnie jak zresztą w próbach *Doerra* i *Schnöbla* i *Otto*.

Venulet. Odczyn *Weila-Felixa* jest natury koloidowo-chemicznej; tak samo jak odczyn *Wassermana*. Kiła, grypa i dur plamisty mogą dawać dodatni odczyn *Wassermana*. Te sprawy chorobowe łączy także odczyn *Weila-Felixa*.

Hirszfeld podnosi różnice między odczynem *Weila Felixa* u ludzi i zwierząt uodpornionych szczepami X_{19}. U królika przeciwciała O i H można wyodrębnić zapomocą absorbcji. Surowice chorych ludzi aglutynują szczep O i H, ale absorbcja wykazuje, że przeciwciała *Anti-H* i *Anti-O* są związane nawzajem.

Sierakowski. Warunki koloidowe w tyfusie plamistym są takie same, jak u zwierząt uodpornionych przeciw X_{19}. Wprawdzie u zwierząt otrzymujemy prze-

ciwciała ciepłostałe, podczas gdy u człowieka wytwarzają się ciepłochwiejne — lecz to nie jest różnica zasadnicza, ponieważ przy uodpornianiu zwierząt jednym szczepem rozmaite gatunki mogą wytwarzać różne przeciwciała.

L. Anigstein i H. Sparrow.
Histopatologja duru plamistego u świnek morskich.

Badania nasze nad histopatologją duru plamistego u świnek morskich prowadzone były z dwóch względów. Przedewszystkiem chodziło o sprawdzenie, czy charakterystyczny obraz histopatologiczny u człowieka, znany z prac *Fraenkla, Bendy, Grzywo-Dąbrowskiego* występuje u świnek, zakażonych durem plamistym. Oprócz tego, specjalną uwagę zwróciliśmy na drobnoustroje, jakie obserwowali w tkankach ludzkich *Wolbach i Todd* oraz w tkankach świnek *Kuczynski* w Berlinie.

Nieznany jeszcze zarazek duru plamistego wywołuje w organizmie zakażonym zmiany tak swoiste, że rozpoznanie tej choroby na mocy obrazu histopatologicznego jest zupełnie pewne. Jad duru plamistego, wprowadzony do organizmu zwierzęcego, atakuje przedewszystkiem śródbłonek drobnych naczyń krwionośnych, zarówno skórnych, jako też naczyń organów wewnętrznych, szczególnie zaś mózgu. Wszystkie dotychczasowe opisy zmian w naczyniach tyczyły się drobnych tętnic.

W pierwszym okresie zakażenia występuje pęcznienie śródbłonka. Komórki jego ulegają zwyrodnieniu i stopniowej martwicy, oddzielają się one od śródbłonka i powodują zakrzepy w świetle naczyń. W zakrzepach tych znajdujemy zwyrodniałe komórki śródbłonka wraz z białemi ciałkami krwi. Jednocześnie tkanka okołonaczyniowa ulega bujaniu, komórki jej przerastają ściankę naczynia, które zatraca swą normalną strukturę i ulega martwicy. Ścianka naczynia może zupełnie zniknąć, pozostają jedynie poszczególne komórki, ułożone koncentrycznie, wskazujące na naczyniowe pochodzenie ogniska. W ognisku tym znajdujemy zawsze liczne nacieczenia, składające się z leuko-i limfocytów. W innych przypadkach zmieniona ścianka ulec może przerwie i wówczas nazewnątrz naczynia znajdujemy wylewy krwawe.

Opisany tu proces najczęściej daje się obserwować w istocie szarej mózgu świnek, zwłaszcza na dnie 4-ej komory. Komórki nerwowe nie ulegają silniejszym zmianom, jedynie w pobliżu wspomnianych ognisk zauważyć można neurofagizm komórek nerwowych przez komórki glejowe.

Zmiany naczyniowe w innych narządach są zupełnie identyczne, lecz spotykają się rzadziej. Znajdowaliśmy w wątrobie niejednokrotnie nacieczenia wokoło żył międzyzrazikowych. O zmianach tych u ludzi wspomina jedynie *Dawydowski*, u zwierząt zaś doświadczalnych, zakażonych durem plamistym, zjawisk tych dotychczas nie obserwowano. Badania nasze stwierdziły więc u świnek, zakażonych durem plamistym, swoiste zmiany histopatologiczne. Ponadto zwróciliśmy uwagę na twory w komórkach śródbłonka.

Wolbach i *Todd* (1922) opisują obserwowane często przez nich drobnoustroje w ściankach naczyń ludzi, zmarłych na dur plamisty. Podobne drobnoustroje opisał *Kuczynski* w wątrobie świnek, zakażonych du-

rem plamistym. Autorzy ci, upatrując w tworach morfologiczne podobieństwo do *Rickettsia*, identyfikują je z *Rickettsia Prowazeki*. W licznych preparatach histologicznych mózgu i organów wewnętrznych świnek, zakażonych durem plamistym, nie udało się nam spostrzec tworów, które można byłoby utożsamić z *Rickettsia Prowazeki*. Procesy nekrobiotyczne, doprowadzające do rozpadu jądra i zarodzi komórek, oczywiście spowodować mogą ukazanie się w tkankach ziarnistości, wyglądem swym przypominających *„Rickettsia"*.

Rajchman zapytuje, czy udało się autorom potwierdzić wyniki pracy *Wolbacha* i *Todda*.

Anigstein. Wyniki otrzymane zgadzają się mniej więcej z wynikami *Wolbacha* i *Todda*, co do zmian histologicznych; nie znajdywano jednak nigdy tworów identycznych z *Rickettsia Prowazeki*.

Djagnostyka bakterjologiczna.

L. Anigstein i Z. Milińska.
Dalsze badania nad żółtaczką paratyfusową.

Przeprowadzone przez nas jesienią roku zeszłego badania nad żółtaczką, która szerzyła się wówczas nagminnie na Wołyniu, doprowadziły do wyników, stwierdzających, że surowice większości chorych na żółtaczkę posiadają własność zlepiania szczepu *Stanley*, grupy *b. Aertrycke*. Badania przeprowadzone były na 30 chorych. Dalsze badania wykonaliśmy na 55 przypadkach, pochodzących z Warszawy i jej okolic. W tych przypadkach t. zw. *„icterus catarrhalis"*, charakteru sporadycznego, można było również stwierdzić zjawisko zlepiania się prątków *Aertrycke Stanley* (72% surowic badanych dawało dodatni odczyn zlepny z tym szczepem w rozcieńczeniu 1 : 200 — 1 : 1600.) O swoistości tego odczynu zlepnego przekonaliśmy się zapomocą prób kontrolnych z surowicami, nadsyłanemi do Oddziału Djagnostycznego Państw. Zakładu Epidemjologicznego. Z 85-ciu prób zlepnych ze szczepem *Stanley* tylko 3 wypadły dodatnio (1 : 100 — 1 : 400). Surowice te zlepiały również *para B* w tym samym rozcieńczeniu. Oprócz tego, używaliśmy do kontroli surowic osób, chorych na żółtaczkę o etjologji odrębnej, mianowicie *„icterus haemolyticus"* oraz na żółtaczkę na tle luetycznym. W tych przypadkach odczyn wypadał stale ujemnie.

Własności biochemiczne 7-miu szczepów prątków, wyhodowanych ze krwi i z moczu chorych na t. zw. *„icterus catarrhalis"* świadczą o przynależności tych prątków do grupy paratyfusowej. Szczepy te różnią się nawzajem, mianowicie dwa należą do typu *para C*, dwa odpowiadają *para A*, zaś 3 *para B*. Próby absorpcyjne wykazują pokrewieństwo między szczepem *Stanley* oraz wyosobnionemi szczepami *para C*.

Wyniki nasze są potwierdzeniem poglądu, który, szczególnie podczas wojny ostatniej, znalazł wielu zwolenników wśród klinicystów i bakterjologów, mianowicie, że t. zw. *„icterus catarrhalis"* wywołany jest w większości przypadków przez bakterje. Nie możemy jednakowoż mówić o jedno-

litej etjologji tych stanów chorobowych, gdyż, jak widzimy, przyjmują w nich udział różne typy serologiczne prątków paratyfusowych (mozajka antygenowa).

Przebieg kliniczny sporadycznych przypadków żółtaczki „nieżytowej" nie różni się od przebiegu formy epidemicznej. Jednolite wyniki odczynów serologicznych przemawiają również za tożsamością tych stanów chorobowych.

Hirszfeld podkreśla, że wyniki autorów dowodzą, jak dalece niewystarczającem jest używanie do odczynu *Widala* tylko typowych szczepów grupy tyfusowej. Należy wprowadzić do serodjagnostyki chorób zakaźnych posługiwanie się również nietypowemi szczepami paratyfusowemi, jak uczynili to autorzy pracy.

Rajchman zapytuje, w ciągu jakiego czasu obserwowano reakcje biochemiczne wyosobnionych szczepów, oraz czy wszystkie szczepy fermentowały dulcit.

Anigstein odpowiada, że wszystkie pożywki z cukrami obserwowane były w ciągu tygodnia i, jako reakcję ostateczną, przyjmowano zmiany po upływie tego czasu. Z badanych szczepów tylko jeden wywoływał fermentację dulcitu.

Henryk Brokman i Helena Sparrow.

Przyczynek do epidemjologji anginy Plaut-Vincent i stomatitis ulcerosa.

W lecie 1921 roku, w przytułku dziecięcym na przedmieściu Warszawy, wybuchła epidemja anginy Plaut-Vincent i stomatitis ulcerosa. W ciągu trzech miesięcy zachorowało przeszło 80% dzieci (47 dzieci). Epidemja ta jest największa ze wszystkich, znanych dotychczas w literaturze. W początku epidemji przeważało zapalenie migdałków, w następnym okresie stomatitis ulcerosa. Na stomatitis chorowały przeważnie dzieci młodsze, angina występowała częściej u dzieci starszych, lecz i tu przeważało zapalenie jamy ustnej. Obie postacie często występowały jednocześnie u tego samego chorego. Przebieg epidemji upoważnia do twierdzenia, że czynnik decydujący był tu natury zakaźnej.

Badania bakterjoskopowe preparatów z nalotów i owrzodzeń wykazały, we wszystkich przypadkach zachorowań, obecność symbiozy krętków i prątków wrzecionowatych, charakterystycznych dla anginy Plaut-Vincent. Znacznym wahaniom ulegał wzajemny stosunek ilościowy tych drobnoustrojów. Prątki wrzecionowate przeważały w okresie początkowym choroby, następnie liczba krętków się wzmagała, a zwykła flora zanikała prawie zupełnie. W okresie gojenia krętki i prątki ustępowały miejsca zwykłej florze jamy ustnej.

Prątki wrzecionowate w preparatach mikroskopowych są zazwyczaj gramoujemne i leżą pojedyńczo, nie tworząc grup, czem się różnią od prątków błoniczych. Dość często jednak można spostrzegać również postacie gramododatnie, towarzyszące postaciom gramoujemnym.

Krętki, znajdowane w badanych preparatach, należały najczęściej do typu *Spirochaeta buccalis*, rzadziej do typu *Spirochaeta dentium*; typ ten był częściej widywany w stomatitis ulcerosa, jednocześnie z typem *Spirochaeta buccalis*.

Rola dwóch opisanych drobnoustrojów w etjologji schorzenia nie jest jasną. Nie ulega jednak wątpliwości, że posiadają znaczenie patogenetyczne.

W przebiegu lat 1919, 1920 i 1921, liczba zachorowań na anginę Plaut Vincent i stomatitis ulcerosa wzmogła się znacznie, co stwierdzają zebrane dane statystyczne. Ilość badań, dokonanych w Państwowym Zakładzie Epidemjologicznym w Warszawie, stwierdzających obecność krętków i prątków w nalotach z gardzieli i jamy ustnej, wynosiła: w roku 1919— 9% wszystkich badanych przypadków, w roku 1920 — 19%, w roku 1921 — 31%. Dowodzi to, że w tym czasie epidemja anginy Plaut-Vincent i stomatitis ulcerosa dotknęła także Polskę.

Eisenberg proponuje wprowadzenie nazw: *krętka* dla *spirillum* i *krętowłosa* dla *spirochaeta*. Mówca przypuszcza, że w sprawie chorobowej, o której mowa, dużą rolę odgrywają zaburzenia odżywcze, które upośledzają odporność jamy ustnej i błon śluzowych przeciwko bakterjom lokalnym. Mówca poleca leczenie barwnikami anilinowemi i pędzlowanie 1%-ym rozczynem fjoletu kryst. (*pyontaniva*).

Brokman przypuszcza, że awitominozy, albo niedostateczne odżywianie nie odgrywają znaczniejszej roli w rozpowszechnieniu anginy.

Wyrób szczepionek.

St. Sierakowski.
Studja nad pożywkami.

Badania nad pożywkami podjęte zostały głównie dla celów praktycznych. Chodziło o to, czy sposób przyrządzania pożywek dla bakteryj chorobotwórczych, przyjęty obecnie w większości pracowni i stosowany od szeregu lat bez zmian, jest istotnie racjonalny.

Badania wykonywaliśmy na pożywkach agarowych, we flaszkach płaskich, określając ilość bakteryj, spłukanych z powierzchni pożywki agarowej, metodą nefelometryczną. Do badań służyły: bakterje choleryczne, tyfusowe i czerwonkowe, typu *Shiga-Kruse*, *Bact. coli*, odmieniec X_{19} i gronkowce.

Przedewszystkiem, nie zmieniając wzajemnego stosunku poszczególnych składników w pożywce, skontrolowaliśmy zależność wzrostu bakteryj od stężenia pożywki. Okazało się, ze pożywki rozcieńczone, aż do stężenia, wynoszącego 1% peptonu z wyciągiem rozcieńczonym do połowy, są dobrze wyzyskiwane przez bakterje, gdyż ilość otrzymana jest proporcjonalna do stężenia pożywki. Podczas dalszego zagęszczania pożywki, stosunki się zmieniają: ilość bakteryj wprawdzie wzrasta, ale już nie postępuje w stosunku prostym do stężenia pożywki; staje się mniejsza, wreszcie podczas stężenia pożywki, wynoszącego 5% peptonu z wyciągiem zagęszczonym 2½ razy, nie otrzymujemy już przyrostu bakteryj, a podczas dalszego zagęszczania następuje wybitny spadek.

Z tych doświadczeń wyciągnęliśmy wniosek, że do wyrobu szczepionek opłaca się używać pożywek bardziej zgęszczonych, niż używane były do tej pory, a do badań djagnostycznych, gdzie zależy na maksymal-

nym wzroście bakteryj chorobotwórczych, należałoby używać jeszcze bardziej stężonych pożywek.

Drugiem pytaniem było, jaka powinna być grubość warstwy pożywki agarowej, żeby była należycie wyzyskiwana.

Przekonaliśmy się, że bakterje tyfusowe i typu *Shiga-Kruse* wyzyskują znacznie grubsze warstwy pożywki agarowej, niż *Bact. coli* i *Proteus* X_{19}. Z tego względu, warstwa pożywki na płytkach *Petriego* do izolowania bakteryj tyfusowych i czerwonkowych, powinna być kilkakrotnie grubsza, niż to się dotychczas stosuje.

Trzecie pytanie dotyczyło kwestji jak długo należy hodować bakterje. Okazało się, że w temperaturze 36° pożywki słabo alkaliczne w ciągu pierwszych 6 godzin dają wzrost niewidoczny. Wciągu następnych 12 godzin rozwijają się bardzo bujnie, lecz po 18 godzinach od chwili posiewu wzrost bakteryj na agarze już jest ukończony.

Czwartem pytaniem było, w jakiej temperaturze należy hodować bakterje chorobotwórcze? Okazało się, że rosną one najlepiej w temp. 31°—37°; temperatura powyżej 37° jest już szkodliwa dla rozwoju bakteryj. Z tego wniosek, że cieplarki nasze powinny mieć temperaturę niższą, niż 37°, koło 35° — 36,° gdyż w takiej temperaturze otrzymujemy wzrost równie bujny, a nie narażamy bakteryj na przegrzanie, gdy temperatura w cieplarce podskoczy powyżej 37°.

Piąte pytanie dotyczyło zależności wzrostu bakteryj od czasu hodowania i temperatury równocześnie. Okazało się, jak w poprzedniem doświadczeniu, że temperatura powyżej 37° jest już szkodliwa dla bakteryj, a następnie, że bakterje, hodowane w temperaturze poniżej 37°, dają tem obfitszy wzrost, im temperatura jest niższa, lecz coraz później. Z tych badań wynika również, że do hodowania bakteryj chorobotwórczych niekoniecznie trzeba używać cieplarek o stałej temperaturze, lecz, że mogłyby wystarczyć naczynia mniej więcej izolowane, w których temperatura opada powoli. Byłoby to niewątpliwie znacznem uproszczeniem i ułatwieniem techniki bakterjologicznej.

Szóste pytanie dotyczyło ilości soli kuchennej, jaką należy dodawać do pożywek. Okazało się, że każda z badanych bakteryj wymaga różnej ilości soli kuchennej. Cholera rośnie najlepiej przy 0,5% soli kuchennej; przy 5% nie rośnie zupełnie. Tyfus rośnie jednakowo przy 0,5% do 3% soli kuchennej, później rośnie słabiej; *proteus* jednakowo przy 0,5% do 5%. Bakterje typu *Shiga* rosną najlepiej przy 1,0 — 1,5% soli; przy większych lub mniejszych %-tach rosną znacznie słabiej. Gronkowce rosną tem lepiej, im wyższe jest stężenie soli kuchennej. Widocznie, przebywając na skórze, bakterje te przystosowały się do większych stężeń soli kuchennej.

Siódme i ostatnie pytanie dotyczyło kwestji, jakie stężenia jonów wodorowych są najodpowiedniejsze dla poszczególnych gatunków bakteryj. Bakterje, które fermentują cukry, gronkowce, *coli*, odmieniec, rosną na pożywkach kwaśnych; inne, jak tyfus, są bardziej wrażliwe na kwasowość podłoża; jeszcze bardziej wrażliwą jest *B. Shiga*, najbardziej cholera, która poniżej punktu obojętnego nie rośnie.

Z tych badań wynikałoby, że dotychczasowe szablonowe przyrządzanie pożywek nie wytrzymuje krytyki, że sposób przyrządzania pożywek musimy zróżniczkować, w zależności od gatunku bakteryj, które mamy zamiar hodować, oraz od celu, dla którego hodujemy bakterję.

St. Sierakowski.
Z badań nad szczepionkami.

Doświadczenia te miały na celu przestudjowanie trzech zagadnień:

1) Jak wpływa ilość, wprowadzonej do ustroju, szczepionki na powstawanie we krwi osób uodpornionych przeciwciał swoistych.

Zagadnienie to jest ważne z tego powodu, że jeżeli zapomocą małej dawki szczepionki można otrzymać ten sam efekt co zapomocą dużej, to lepiej używać dawek mniejszych, dlatego, że wówczas są mniejsze reakcje po szczepieniu, potrzeba mniej szczepionki, a co jest rzeczą najważniejszą, można mieszać ze sobą wiele różnych gatunków bakteryj i w ten sposób za jednym zachodem uodporniać przeciwko wielu zarazkom.

2) Drugie zagadnienie dotyczyło kwestji szczepionki uczulonej, t. z. szczepionki z dodatkiem pewnym surowicy swoistej. Ażeby zbadać lepiej wpływ surowicy na szczepionkę, dodawaliśmy z jednej strony ilość surowicy taką, która jest potrzebna, żeby bakterje w szczepionce zaglutynować (ilość ta była uprzednio ściśle wymiareczkowana); z drugiej strony dodawaliśmy ilość surowicy znacznie większą, taką, którą bakterje, zawarte w szczepionce, wogóle są zdolne pochłonąć.

3) Trzecie zagadnienie dotyczyło sposobu zabijania szczepionki. Zbadaliśmy: a) rezultaty zabijania przez ogrzewanie w ciągu jednej godziny w temperaturze najniższej, zabijającej dany gatunek bakteryj; temperatura taka wynosi dla bakteryj tyfusowych 56°, dla bakteryj cholerycznych 53°; b) zabijanie przez ogrzewanie w ciągu 24 godzin, w temperaturze najniższej, zabijającej dane bakterje w tym czasie (temperatura ta wynosi 48°); c) zabijanie gliceryną, która, jak wykazały poprzednie moje doświadczenia, daje wogóle bardzo dobre wyniki i d) zabijanie eterem w sposób, wprowadzony przez *Vincent*.

Metoda badań. Używaliśmy szczepionki mieszanej: tyfusowej i cholerycznej, bez paratyfusu. Dawka szczepionki była uprzednio ustalona doświadczalnie na ludziach w ten sposób, żeby wywoływała reakcje średnie. Wynosiła ona 0,2 mgr. bakteryj tyfusowych i 0,5 mgr. bakteryj cholery za 1-szem szczepieniem i podwójną dawkę po tygodniu. Poszczególne serje tych szczepionek stosowaliśmy u poszczególnych seryj osób (badania były wykonywane na żołnierzach), w ten sposób, że 1-sze i 2-gie szczepienie krwi były wykonywane równocześnie dla danej serji szczepionki. Wszyscy żołnierze byli szczepieni w jednakowych warunkach. Badanie wziętych próbek krwi wykonywałem w ten sposób, że robiłem aglutynację z bakterjami tyfusowemi; aglutynacja z bakterjami cholerycznemi była bardzo niska, tak, że trzeba było zrezygnować z jej przeprowadzania.

Pierwsza serja doświadczeń była przeprowadzana pełną dawką szczepionki, druga połową dawki, trzecia $^1/_{10}$ dawki. W miarę zmniejszania

dawki szczepionki, ilość przeciwciał malała, ale nie w stosunku prostym. Podczas dwukrotnego zmniejszenia dawki miano aglutynacyjne zmniejszało się zaledwie o 15%. Przy zmniejszenia dawki 10-krotnem, zmniejszało się o 50%. Z tego wynika, że zmniejszać dawkę szczepionki możemy, lecz w ograniczonym zakresie. Możemy więc robić szczepionki mieszane, ale nie ad infinitum. Co do drugiej kategorji szczepionek, okazało się, że szczepionka uczulona, do której dodano surowicy swoistej tyle tylko, żeby bakterje zaglutynować, dała bardzo złe wyniki, gorsze niż $^1/_{10}$ dawki szczepionki bez surowicy. Jeszcze gorsze wyniki dała szczepionka z bakterjami, nasyconemi surowicą swoistą. Jeżeli przejdziemy do trzeciej kategorji szczepionek, gdzie chodziło o stwierdzenie sposobu zabijania szczepionki, to najlepsze wyniki dała szczepionka zabijana gliceryną, później ogrzewaniem w ciągu jednej godziny. Ogrzewanie w ciągu 24 godzin dało gorsze wyniki, czyli czas twania hodowania ma w tych warunkach większe znaczenie, niż wysokość temperatury. Szczepionka zabita eterem dała wyniki pośrednie.

Rajchman zapytuje czy nie zamało osób zbadano, aby czynić wnioski ogólne.

Sierakowski. Liczniejszych przykładów w literaturze nie opisano. Indywidualne wahania są ogromne.

Szymanowski sądzi, że na mianie aglutynacyjnem surowic ludzi szczepionych opierać się nie można; nie świadczy ono o wartości szczepienia.

Wyrób surowic.

L. Hirszfeld i F. Przesmycki.

(Sprawozdawca F. Przesmycki).

O znaczeniu transfuzji dla wydajności zwierząt szczepiennych.

Nawet znaczna utrata krwi nie pozbawia zwierzęcia życia, jeśli zastąpimy krew utraconą przez krew świeżą. Pod tym względem wojna ubiegła rozszerzyła zakres stosowania transfuzji. U ludzi przy transfuzji należy uwzględniać różnice serologiczne między krwinkami. Należy używać albo krwi tej samej grupy, albo przynajmniej krwi, której nie aglutynuje surowica pacjenta. Postanowiliśmy zastosować transfuzję w celu podniesienia produkcji surowic, zastępując krew zwierząt uodpornionych krwią zwierząt normalnych. Badania nasze na koniach Państwowego Zakładu Wyrobu Surowic wykazały, że krwinki koni, pod względem serologicznym, nie są do siebie podobne. Podobnie, jak u ludzi, mamy i u koni do czynienia z kilkoma typami serologicznemi. Pierwszy więc warunek pomyślnej transfuzji, mianowicie wybór odpowiedniej krwi, mógł być zatem spełniony. Dalsze badania przeprowadzaliśmy na królikach, z których pobieraliśmy, z ca. rotis lub z serca, 20 ccm. krwi, wstrzykując im taką samą ilość krwi, z dodatkiem cytrynianu, z innego królika. U królików nie znajdujemy różnic serologicznych; branie więc w rachubę tej okoliczości staje się zbyteczne. Obliczając spadek miana, mogliśmy ustalić dokładnie ilość pobranej od zwierzęcia krwi. Stwierdziliśmy w ten sposób, że u królików, w przeciągu

jednego do trzech dni, można zastąpić do 80% krwi własnej przez krew cudzą bez szkody dla zdrowia.

Wobec pomyślnych rezultatów przystąpiliśmy do badań nad koniem. Z początku robiliśmy transfuzje mniejsze, do 3 litrów, które koń znosi doskonale. Wreszcie pobraliśmy w przeciągu 3 dni po 8 litrów krwi, czyli razem wzięliśmy 24 litrów, co przypuszczalnie odpowiadało całkowitej ilości krwi w organizmie. Zastrzyknęliśmy na to miejsce krew w cytrynianie innych koni, należących do tej samej grupy. Koń żył, miał apetyt, i to przez sześć dni, na 7-my dzień jednak nastąpiły objawy osłabienia i na 8-my dzień koń padł. Tłomaczymy sobie to w ten sposób, że krwinki, mimo, że należały do jednej grupy, posiadały inne własności serologiczne, niż krwinki konia zastrzykniętego i wywołały przeciwciała. Przeciwciała powstały na 5-ty, 6-ty dzień, wywołując zniszczenie zastrzykniętej krwi. Wobec tego ujemnego rezultatu przystąpiliśmy do prób narazie na królikach z autotransfuzją, wprowadzoną przez angielskich badaczy u koni i stosowanej przez dr. *Eisenberga* i dr. *Gieszczykiewicza*. Upuszczaliśmy królikowi z serca 20 — 25 ccm. w cytrynianie i, po odwirowaniu osocza, zastrzykiwaliśmy temuż królikowi do żyły własne krwinki. W ten sposób, w przeciągu 3 dni, uzyskiwaliśmy ilość surowicy, którą dają zwykle króliki przy zabiciu. Zwierzęta znosiły zabieg doskonale, miano spadało zwykle tylko do 50%. A zatem, u królików możemy stosować zarówno metodę izo-, jak i autotransfuzji, u koni jedynie autotransfuzję, jak to obecnie na szeroką skalę wykonuje Zakład Krakowski.

Hirszfeld. Transfuzja krwi daje możność zbadania i wyróżnienia odporności tkankowej i humoralnej Badania te będą dalej prowadzone w Zakładzie Badania Surowic w Warszawie. Zamieniając krew, zawierającą przeciwciała, przez krew normalną, nie widzimy wznoszenia się miana. Teorja *Sablego*, upatrująca bodziec antygenowy w zmniejszeniu się ilości normalnych przeciwciał w stosunku do komórki, nie znalazła zatem potwierdzenia.

F. Eisenberg i Gieszczykiewicz.
O transfuzji krwi u koni surowiczych.

Nowsze rozległe doświadczenia lecznicze, zwłaszcza badaczów amerykańskich nad transfuzją krwi, wykazały, że głównem niebezpieczeństwem przy znaczniejszej utracie krwi jest brak krwinek czerwonych, jako roznośników tlenu i że natomiast ustrój łatwo wyrównuje utratę płynu przez przesączanie osocza z tkanek do naczyń. Idąc śladem badacza australskiego *Penfolda*, poczęliśmy stosować u koni surowiczych serje znaczniejszych upustów krwi (4 upusty po 5 — 8 litrów), przyczem krew puszcza się z żyły do naczynia z 6%-owym roztworem obojętnego cytrynianu sodowego (50 cm^3 na 1 litr krwi). Po odstaniu się krwinek, zbiera się z ponad nich osocze, które następnie, po dodaniu 10 — 20 $cm.^3$ 20%-ego $CaCl_2$, krzepnie i służy do uzyskania surowicy. Krwinki, najlepiej bez wszelkiego dodatku, wlewa się koniowi z powrotem do żyły przy następnym upuście, t. j. po 10 — 14 godzinach. Tak przeprowadzane serje nie powodują poważniej-

szych zaburzeń w zdrowiu konia, ilość zaś hemoglobiny i krwinek czerwonych ulega nieznacznemu obniżeniu.

Jedna serja składa się z 4 upustów, które rozkłada się na dwa dni w ten sposób, że jeden upust przypada na godziny ranne, następny na popołudniowe. Bezpośrednio po każdym następnym upuście wprowadza się ciałka z upustu poprzedniego. Takich seryj wykonano 63 u 36 koni, przyczem u 15 koni wykonano po jednej serji, u 16 po 2, u 4 po 3, u jednego nawet 4 serje po 20 litrów krwi w ciągu sześciu miesięcy. Uzyskano zatem zapomocą tej metody wydajność około 40 litrów surowicy w ciągu $^1/_2$ roku, co daje 80 litrów surowicy na rok. Niestety, uzyskanie maksymalnej wydajności będzie możliwe dopiero wtedy, kiedy Ministerstwo zgodzi się na zwiększenie personelu; obecnie metoda ta pozwala co najwyżej na pewną oszczędność w nabywaniu koni.

Miano antytoksyczne surowicy słabnie w ciągu jednej serji upustów przeciętnie o $^1/_3$, a więc, jeżeli 1-y upust zawierał 300 jedn. w 1 cm.^{3}, to 4-ty będzie ich zawierać około 200.

Konie znoszą, zarówno upusty, jak wlewy, bardzo dobrze, o ile rozporządzać dostatecznie czystym preparatem cytrynianu. Konie zachowywały się też zupełnie normalnie.

Surowica, uzyskana tą metodą, dzięki zawartości pewnego nadmiaru chlorku wapnia, daje objawy posurowicze daleko rzadziej i daleko słabsze, niż surowica zwyczajna.

Zastosowanie jonów wodorowych w badaniach biologicznych.

St. Sierakowski.

Zmiany w stężeniu jonów wodorowych podłoży bakteryjnych w miarę wzrostu bakteryj.

Badania miały na celu stwierdzenie zależności rozwoju bakteryj od stężenia jonów wodorowych. Wiadomo, że bakterje mogą się rozwijać jedynie w kulturach o pewnem stężeniu jonów H'. Stężenie jonów wodorowych oznaczamy symbolem Ph. Ph równe 7,0 stanowi punkt obojętny; jest to stężenie jonów wodorowych absolutnie czystej wody. Ph większe, 8·0, 9 0, aż do 14, mają płyny zasadowe, 6, 5 aż do 1 mają płyny kwaśne. *Bac. coli* rozwija się przy Ph 5,0 do 10,0; bakterje, typu *Shiga* i *Kruze*, mają skalę znacznie większą i rosną jedynie przy Ph 6,5 do 8,5.

Stężenie jonów wodorowych podłoża, na którem rozwijają się bakterje, nie jest stałe, lecz zmienia się w miarę wzrostu bakteryj bardzo wybitnie. Zmiany te podzielić można na dwa okresy: 1-szy, trwający krótko, od 2 do 4 dni, zaznacza się tem, że pożywki silnie alkaliczne, na których jednak rosną jeszcze bakterje, zakwaszają się, pożywki kwaśne alkalizują się, natomiast pożywki o Ph, stojącem w pobliżu punktu obojętnego, pozostają bez zmiany. Wynika z tego, że w 1-szym okresie rozwoju bakteryj, stężenie jonów wodorowych w podłożach zdąża do pewnego Ph, które jest różne dla poszczególnych gatunków bakteryj, ale mniej więcej stałe dla danego

gatunku. Punkt ten dla *coli* wynosi 7,6, dla *cholery* 7,7, dla bakt. typu *Schiga* 6, 8, dla *tyfusu* 7, 1, dla *gronkowców* 8,2 i t. d.

Po tym pierwszym okresie następuje drugi, w którym wszystkie bez wyjątku pożywki kwaśne, obojętne i alkaliczne zaczynają się alkalizować tak, że po pewnym czasie wszystkie pożywki osiągają jedno i to samo stężenie jonów wodorowych, mianowicie od Ph 8,7 do 9,5, a nawet wyżej, wszędzie więc środowisko się alkalizuje.

Związek między zmianami w stężeniu jonów wodorowych, a rozwojem bakteryj jest bardzo ścisły. Rozwój bakteryj na pożywkach obojętnych lub alkalicznych trwa tak długo, dopóki pożywki te nie zaczną się alkalizować; z tą chwilą dalszy rozwój bakteryj ustaje, zaczyna się natomiast ich szybkie obumieranie. Na pożywkach kwaśnych obumieranie bakteryj następuje dopiero wówczas, gdy pożywka kwaśna, alkalizując się, przekroczy pewien punkt zwrotny, charakterystyczny dla pierwszego okresu. Wynika z tego, że w pożywkach, stojących blisko punktu obojętnego, bakterje rozwijają się najszybciej, wskutek czego maksimum jest tem niższe i występuje tem później, im pożywka jest bardziej alkaliczna. Bardzo ciekawe jest zachowanie się wzrostu bakteryj na pożywkach kwaśnych. Maksimum wzrostu występuje tem później, im pożywka jest bardziej kwaśna, ale jest tem większe, im bardziej kwaśną była pożywka, tak że największy rozwój bakteryj otrzymujemy na pożywce najbardziej kwaśnej, na której wogóle rośnie dany gatunek bakteryj; następuje on jednak stosunkowo późno. Obumieranie bakteryj zaczyna się dopiero przy pewnem, mniej więcej alkalicznem, stężenie jonów $H^{\cdot}$. Podobne wyniki otrzymał badacz angielski *Smith*, ponieważ jednak nie badał on zmian stężenia jonów wodorowych, nie umie przyczyn tych zjawisk wytłómaczyć.

W czasie rozwoju bakteryj na podłożach o różnem Ph, zauważamy jeden punkt charakterystyczny, do którego zdążają pożywki, zarówno kwaśne, jak alkaliczne. Czy punkt ten odpowiada Ph samego ciała bakteryj, która w ten sposób reguluje sobie najodpowiedniejsze stężenie jonów wodorowych, czy też stanowi on stężenie jonów wodorowych, najodpowiedniejsze dla rozwoju bakteryj, w tej chwili rozstrzygnąć jeszcze nie można. Drugi punkt mniej lub więcej alkaliczny, do którego zdążają po dłuższym czasie wszystkie pożywki, jest zależny niewątpliwie od stężenia jonów wodorowych produktów przemiany bakteryj, będących w rozpadzie oraz pożywki.

H. Raabe.

Znaczenie stężenia jonów wodorowych ($H^{\cdot}$), ilości pokarmu i stosunku powierzchni kultury do jej objętości w rozwoju wiciowca *Prowazekia* (= *Bodo*) *edax*.

Praca ta wykonana była w Państw. Zakł. Epidemjologicznym w Warszawie, w związku z czynionemi próbami hodowli pierwotniaków pasorzytniczych *in vitro*. Celem jej miała być analiza wpływu warunków na hodowle pierwotniaków. Do badań obrany został wiciowiec, pod względem

morfologicznym i systematycznym zbliżony do form pasorzytniczych *Trypanosoma*, łatwy stosunkowo w hodowli. Wszystkie kultury *Prowazekia edax* wyprowadzone były od jednego, odosobnionego osobnika.

Wyniki doświadczeń nad znaczeniem *stężenia początkowego jonów wodorowych* są następujące. Możliwość rozwoju wogóle *Prowaz. edax* waha się w granicach Ph, równych 4 do 9,4. W tych granicach intensywność początkowa rozwoju wiciowca największa jest przy Ph = 6·2 do 6·6; wyraża się ona w szybkości podziałów i zwiększania się ilości osobników. W obydwie strony od Ph = 6·2 do 6·6 intensywność początkowa się zmniejsza stopniowo. Największa dzienna ilość wiciowców wystepuje w kulturach o Ph = 7, w ciągu pierwszych dni rozwoju kultury; w kulturach słabo kwaśnych ilość wiciowców staje się największa po słabem zalkalizowaniu środowiska. Absolutna ilość wiciowców, które powstają w hodowli, większa jest w kulturach słabo kwaśnych, niż w alkalicznych i zmniejsza się stopniowo, w miarę zbliżania się stężenia jonów H· kultur do ich możliwego maksimum 9.4. W związku z początkową wysokością Ph, więc kwasowością bądź alkalicznością środowiska, krzywa rozwojowa *Prowazekia edax* posiada odmienny przebieg, charakterystyczny dla danej początkowej kwasowości bądź zasadowości kultury.

Wyniki doświadczeń nad znaczeniem *ilości pokarmu* dla rozwoju *Prowazekia edax* wskazały, że ilość pokarmu ma znaczenie względne. *Prowazekia edax* odżywiają się bakterjami (co do osmotycznego sposobu odżywiania się tych wiciowców niema żadnych pozytywnych danych); ilość bakteryj można zwiększać przez zwiększanie ilości buljonu końskiego, na którym kultury były prowadzone. Przy wszystkich innych takich samych warunkach, rozwój kultury trwa tem dłużej, im pokarmu jest mniej, jest on jednak mniej intensywny, wielkość osobników maleje stopniowo. W kulturach o bardzo znacznej ilości bakteryj rozwój trwa krótko, intensywność jego jest b. znaczna, wielkość wiciowców pozostaje bez zmiany, wreszcie giną one, pomimo obfitości bakteryj, z objawami zwyrodnienia. Trzeba przypuszczać, że zwyrodnienie i śmierć wiciowców powodują produkty przemiany materji, wytwarzane przez bakterje i wiciowce.

Badania nad znaczeniem *stosunku powierzchni kultury do jej objętości* wykazały, w związku z aerobiotycznym charakterem *Prowazekia edax*, że im większa jest powierzchnia w stosunku do objętości, tem większa jest intensywność początkowa rozwoju kultury, ilość maksymalna dzienna wiciowców i tem krótszy jest czas jej trwania.

Janusz Supniewski.

O działaniu jonów wodorowych na własności lityczne surowic świeżych.

Bordet, Ehrlich i *Morgenroth* uważali dopełniacza za ciało o określonej budowie. Badania *Hirszfelda* i *Klingera* wykazały, że dane doświadczalne

nie wystarczają dla utrzymania się tego poglądu Można bowiem patrzeć na działanie dopełniacza, jako na zespół zjawisk fizyko-chemicznych, odbywających się w koloidach surowic świeżych pod wpływem uczulonego antygenu, a znikających po stabilizacji pod wpływem nagrzania. W chwili uruchomieniu funkcji dopełniacza następuje, podług tego poglądu, zmiana dyspersji globulin surowicy świeżej. Liczne doświadczenia potwierdziły ten pogląd. *Sachsowi* udało się wywołać hemolizę krwinek przez mieszaninę zawiesiny inuliny z surowicą świeżą. W obydwu wypadkach następuje zmiana dyspersji globulin. Autor sprobował, czy pod wpływem działania H· na surowicę świeżą można będzie uruchomić jej system lityczny. Okazało sie, że przy Ph 3,6 — 4,0 krwinki barana ulegają hemolizie przez surowicę świeżą świnki morskiej w izotonicznym NaCl. W roztworach nieelektrolitów hemoliza ta wypada koło punktu obojętnego. W tych samych granicach, t. j. przy Ph 3,6, występuje pierwsze wytrącenie globulin surowic świeżych. Otrzymane wyniki są potwierdzeniem fizyko-chemicznej teorji dopełniacza. Przy Ph 3,6 następuje wytrącenie globulin surowicy, a równocześnie z tem uruchomienie jej systemu litycznego.

Hirszfeld sądzi że fizykalna teorja dopełniacza zwycięży. Teorja ta zgadza się również z obecnym poglądem na *„crise haemoclasique“*.

Teorja aglutynacji.

J. Brunner, F. Milejkowska i E. Salamonówna.
(Sprawozdawca: J. Brunner).

Badania nad aglutynacją.

I. Zjawisko aglutynacji zarazków, hodowanych na pożywce z dodatkiem soli wapniowej.

W celu zbadania wpływu surowicy aglutynacyjnej na zarazki, przystosowane do pożywki ze zwiększającą się zawartością soli wapniowej, posiłkowano się szczepem durowym i surowicą o mianie zlepnym 1 : 10000 — 1 : 11000. Szczep durowy hodowano na agarze z dodatkiem chlorku wapniowego, przyczem zarazki przeszczepiano na pożywkę z coraz większą zawartością soli wspomnianej, od 0,5% do 5% soli suchej; hodowano w 37°C.

Początkowo, w mniejszych stężeniach, wzrost prątków durowych był bardzo obfity, bujniejszy, aniżeli na agarze o składzie zwykłym; w miarę zwiększania stężenia wzrost był nieco słabszy (poczynając od stężenia 3,5% $CaCl_2$).

Próbę zlepną wykonywano zawsze według *Kollego*, używając stale kontroli tego samego szczepu na pożywce zwykłej.

W pierwszych pokoleniach aglutynacja szczepu, hodowanego na pożywce z solą wapniową, dorównywała kontroli. Następnie, gdy przystosowano prątki do pożywki z 3% $CaCl_2$, miano zlepne obniżyło się do 1 : 5000 (kontrola 1 : 10000); w stężeniu 4% miano zeszło do 1 : 2000; to samo w stężeniu 4,5%. Hodowla na agarze z 5% $CaCl_2$ wykazała miano

zlepne 1 : 500; po kilku dalszych przeszczepieniach miano opadło do 0 (kontrola stale 1 : 10000).

Dla wyłączenia przypuszczalnego wpływu soli wapniowej, przenoszonej wraz z zarazkami do probówki z surowicą, dokonano kilku przeszczepień na agar zwykły, bez wapnia. Próba i tu wykazała zupełną utratę zdolności zlepnych w szczepie badanym.

Dalsze przeszczepianie szczepu naszego na pożywki z 5% $CaCl_2$ wykazało częściowe przywrócenie utraconej własności zlepiania się w rozczynie surowicy. Aglutynacja wzrosła do miana 1 : 200, potem 1 : 500, wreszcie 1 : 1000 i 1 : 2000. Miana zlepnego wyższego nie osiągnięto. Wspomnimy tu raz jeszcze, że szczep wyjściowy stale zlepiał się w rozczynie tej samej surowicy 1 : 10000. Starano się przywrócić szczepowi badanemu własności pierwotne zlepne przez przenoszenie go na agar z dodatkiem chlorku potasowego, chlorku sodowego, cytrynianu sodowego i szczawianu sodowego w różnych stężeniach. Wynik był ujemny; „wyleczenia" nie osiągnięto.

Dalsze badania mają na celu ściślejszą analizę omawianego tu zjawiska.

II. O zlepnikotwórczych właściwościach bakteryj barwionych.

Szczep duru brzusznego, zmyty z agaru, zmieszano $\frac{a}{a}$ z rozczynem pyoktaniny 1 : 1000 (w soli fizjol.) i trzymano w ciepłocie (w 37°C) w ciągu kilku dni. Gdy hodowle mieszaniny na agarze wykazały zabicie zarazków, bakterje odwirowano i przemyto kilkakrotnie na wirówce solą fizjologiczną. Części osadu użyto dla zastrzykiwania królikowi, części zaś dla prób zlepnych. Po kilku zastrzykiwaniach otrzymano od królika surowicę o mianie zlepnym około 1 : 3000. Z surowicą tą dokonano prób aglutynacyjnych z użyciem zarazków barwionych i mytych i równolegle zarazków szczepu wyjściowego nie barwionych (1 godzina 37° i 18 godz. w ciepłocie pokojowej).

Różnice w próbach zlepnych są wyraźne jedynie pod względem jakościowym; miano w obu szeregach probówek dochodzi do 1 : 3000, lecz gdy aglutynacja z zarazkami barwionemi jest wszędzie wybitnie dodatnia (+++) aż do wysokości miana, to z zarazkami nie barwionemi jest wszędzie słaba (+) i ponadnieznacznym osadem płyn jest wybitnie mętny.

Różnice jaskrawsze osiągnięto w próbie zlepnej w ciepłocie 53° (1 godzina); wynik był następujący: miano zlepne z durem niebarwionym 1 : 800 +, 1 : 1600—; z prątkami barwionemi 1 : 3000 + †, 1 : 3200 +, 1 : 6400—. Próba *Castellani'ego* wykazała, że po nasyceniu surowicy szczepem duru niebarwionego pozostały w niej zlepniki dla prątków barwionych.

Wyniki, do powyższych bardzo zbliżone, otrzymano w drugim szeregu doświadczeń, w którym dla uodporniania królika użyto szczepu durowego, nabarwionego auraminą.

Dalsze badania w toku.

III. Próba wyosobniania z szczepu durowego pokolenia, nie podlegającego zlepnemu działaniu surowicy swoistej.

W licznych próbach zlepnych spostrzegamy stałe zjawisko, że ponad osadem, pozostającym w większych rozcieńczeniach surowicy, płyn pozostaje mętny, dzięki obecności w nim niezlepionych zarazków.

Z płynu tego robiono hodowle i po kilku pokoleniach otrzymano szczep (durowy), zupełnie nie zlepiający się pod działaniem surowicy aglutynacyjnej.

Tak, naprzykład, w III pokoleniu otrzymano wynik następujący:

A. Hodowla z osadu, otrzymanego w próbie zlepnej;

B. Hodowla z mętnego płynu, zebranego z ponad osadu w próbie zlepnej.

A: aglutynacja w rozcieńczeniu surowicy 1 : 25600 + +

B: „ „ „ 1 : 100 —

Cechy morfologiczne i biologiczne prątków w hodowli A. i B. wykazały ich zupełną zgodność, tak, że twierdzić możemy, że przez wytrącanie, dzięki użyciu surowicy zlepnej, jesteśmy w stanie wyosobnić z hodowli prątki, które zdolności zlepnej nie posiadają.

Dalsze hodowle tych ostatnich prątków tę samą cechę ujemną, z małemi wahaniami wykazują i nadal. A. i B. (po ogrzaniu w 60°C) użyto dla uodpornienia 2 królików i otrzymano surowicę anti-A i anti-B.

Wyniki działania obu surowic były następujące:

Szczep	Surowica	Wynik aglutynacji — 2 godziny 37° i doba 18° — 20°C
A	anti A	1 : 6400 +++; 1 : 12800 +++; 1 : 25600 ++
B	anti B	1 : 800 ++; 1 : 3200 ±; 1 : 6400 —
A	anti A	1 : 25600 —
B	anti B	1 : 800 +; 1 : 1600 —

Doświadczenia te dowodzą, że własności zlepnikotwórcze szczepu B są zachowane, utracona jedynie zdolność zlepiania się i przytem: a) zupełnie względem surowicy zlepnej heterogenetycznej i b) znacznie względem surowicy autogenetycznej.

Dalsze badania są w toku.

Eisenberg. Drogą frakcjonowanego strącania można otrzymywać bakterje niezlepiające się nawet w znacznych stężeniach surowic. Zwykle w hodowli mamy zbiór bakteryj o różnych wrażliwościach zlepnych i miareczkujemy przeciętną właściwości zlepnych. W pracy z r. 1906 mówca podniósł, że celem otrzymania szczepów nieaglutynujących się należy hodować z górnych warstw zawiesiny. Zadanie to zostało wypełnione przez *Moona*, który otrzymał szczepy bardzo wrażliwe i zupełnie niewrażliwe; szczepy te dziedziczyły swe właściwości. Funkcja wrażliwości zlepnej jest chwiejną, natomiast funkcja zlepninorodna jest istotniejsza i trudno ulega zmianom.

Szymanowski otrzymał takie same wyniki, wychodząc z obserwacji poszczególnych kolonij. Ze szczepów typu *Shiga* mówca otrzymywał szczepy różnorodne pod względem morfologicznym lub pod względem właściwości zlepnych, z dziedziczeniem tych cech.

W mieszance zaglutynowanej pewne produkty chemiczne mogą prowadzić do zmian w protoplazmie. To nie jest selekcja poszczególnych indywidów, tylko konsekwencje procesów, które się przy aglutynacji odbywają.

L. Hirszfeld i J. Seydlówna.

(Sprawozdawca: L. Hirszfeld).

O istocie aglutynacji obłoczkowatej i grudkowatej.

Weil i *Felix* zauważyli, że X_{19} H aglutynuje się w formie lekkiego obłoczka, X_{19} O w formie grudek. Gotowane X_{19} H aglutynuje się w formie grudek. Przeciwciała, skierowane przeciwko typowi X_{19} O, aglutynują H w formie grudek. Autorzy ci sądzili, że szczepy H posiadają 2 chwytniki, z których jeden H, warunkuje aglutynację obłoczkowatą, tymczasem gdy drugi, O jest ciepłostały i daje aglutynację grudkowatą. Podobne zapatrywania wygłosili autorzy o bakterjach grupy durowej i paradurowej. Badania nasze wykazały, że surowice, skierowane przeciwko szczepom gotowanym, nie różnią się jakościowo od surowic, powstałych na skutek zastrzyku szczepów niegotowanych. Surowica *anti-O* wogóle nie aglutynuje szczepów H. Surowica odpornościowa *anti-H* aglutynuje zarówno O, jak i H, a przeciwciała przeciwko O można wyodrębnić drogą swoistej absorbcji. Wbrew mniemaniu *Weila* i *Felixa* surowice chorych na dur plamisty aglutynują H obłoczkowato. Przeciwciała, skierowane przeciwko O w surowicach chorych na dur plamisty, nie dają się wyodrębnić od *anti-H*.

Sole metali aglutynują zwykle grudkowato, bez względu na to, czy bakterje są gotowane, czy świeże. Koloidy liofilne aglutynują obłoczkowato, koloidy liofobne grudkowato. Możemy przypuścić, że koloidy liofilne nie mogą zespolić się z sobą wskutek posiadania otoczek wodnych. Przenosząc analogję na aglutynację, przypuszczamy, że typ H podobniejszy jest do koloidów liofilnych, typ O do liofobnych. Gotowane bakterje zatraciły przez koagulację powinowactwo do wody i wypadają zatem, jako koloidy liofobne. Upatrujemy zatem rozmaitą formę aglutynacji nie w rozmaitych przeciwciałach, a w rozmaitem powinowactwie bakteryj do wody.

Badania nad czerwonką doświadczalną.

L. Hirszfeld, E. Przesmycki, J. Seydel i S. Sierakowski.

(Sprawozdawca: L. Hirszfeld).

O miareczkowaniu surowic i jadów czerwonkowych.

Praca została wykonana z polecenia Ligi Narodów, w związku z badaniami nad ujednostajnieniem miana surowic. Zagadnienia, które trzeba rozstrzygnąć przed przystąpieniem do ustalania sposobów miareczkowania, są następujące:

a) czy jady czerwonkowe są toksynami, czy endotoksynami,

b) czy surowice czerwonkowe powinny być antytoksyczne, czy antyendotoksyczne,

c) czy trzeba miareczkować surowice na zawartość antytoksyczną, czy antyendotoksyczną.

Z temi zagadnieniami związany jest szereg pytań, dotyczących np. najlepszego wydobywania jadów, wpływu pożywki, jonów wodorowych i t. d. Przedewszystkiem stwierdziliśmy, że jad czerwonkowy powstaje, wbrew ogólnemu mniemaniu, zarówno na podłożach kwaśnych, jak i alkalicznych; podłoża kwaśne bakterje czerwonkowe alkalizują. W chwili, gdy Ph przewyższa 7,5, występują jady. Maksimum jadowitości znaleźliśmy przy szczepieniu buljonem o Ph 7,5. A zatem, na podłożach kwaśnych jady czerwonkowe powstają, ale później, niż na podłożach alkalicznych.

Jady czerwonkowe wywołują u królików objawy nerwowe, rzadziej zaś kiszkowe. Ponieważ objawy nerwowe są u ludzi rzadkie, powstaje zagadnienie, czy jad czerwonkowy wogóle działa na człowieka. Spostrzeżenia *Olickiego i Kliglera* wskazują, że toksyny z hodowli buljonowych młodych mają powinowactwo do systemu nerwowego, tymczasem gdy endotoksyny, znajdujące się w hodowlach starych, wywołują objawy kiszkowe. Surowica, podług autorów amerykańskich, posiada przeciwko tym dwum składnikom odrębne przeciwciała, wymagające specjalnego miareczkowania.

Badania nasze wykazały, że buljony czerwonkowe, młode lub stare, wywołują analogiczne objawy u królików. Badania były przeprowadzane na kilkunastu szczepach, przy jednoczesnem porównaniu zatrucia przez bakterje żywe, wyciągi bakteryjne i t. d. Nie można było zatem biologicznie wyodrębnić jadów nerwowych od kiszkowych. Celem rozstrzygnięcia tej kwestji, kol. Dr. *Saski* uodpornił konia 6-dniowemi filtrowanemi hodowlami, które, podług *Olickiego i Kliglera*, zawierają czyste toksyny. W ten sposób otrzymaliśmy surowicę, która winna zawierać tylko antytoksyny i porównaliśmy ją z surowicami, wywołanemi przez zastrzyk bakteryj żywych lub zabitych. Okazało się, że taka antytoksyczna surowica posiada coprawda mniej aglutynin, jednak ich zdolności zobojętniania jadów, kiszkowego lub nerwowego, są te same.

Na podstawie tych wyników można przystąpić obecnie do ustalenia jednostki antytoksycznej.

St. Hirszberg i H. Sparow.

Badania nad histologją patologiczną w zatruciu królików jadem czerwonkowym.

Miareczkowanie surowic przeciwczerwonkowych odbywa się na królikach; stąd poznanie zmian, następujących w organizmie króla pod wpływem jadów czerwonkowych, jest zagadnieniem o doniosłem znaczeniu praktycznem. Badania, o których tu mowa, wykonane były pod kierunkiem prof. Dr. *Hornowskiego*. Zmiany anatomo-patologiczne, powstałe wskutek zakażenia króli bakterjami czerwonki, toksynami z hodowli młodych i starych, oraz wyciągami bakteryjnemi, są znacznie mniej wybitne i mniej

swoiste, niż takież zmiany ludzi zmarłych wskutek czerwonki. Porażenie jelit grubych, występujące wybitnie u człowieka, u królików często usuwa się na drugi plan, ustępując miejsca porażeniom centralnego układu nerwowego. Sekcjonując około 600 królików, zabitych jadem czerwonki, ani razu nie widzieliśmy w jelitach zmian tak daleko posuniętych, aby je było można uważać za powód śmierci zwierzęcia.

Zmiany jelitowe umiejscowiają się przeważnie w kiszce ślepej, znacznie słabsze zmiany znajdowaliśmy w wyrostku robaczkowym i tylko w nielicznych przypadkach w dolnym odcinku jelit grubych i w *rectum*. Inne narządy jamy brzusznej nie wykazywały wybitniejszych zmian makroskopowych.

Naogół zmiany, które spostrzegaliśmy w jelitach i w mózgu, można rozsegregować, zależnie od natężenia procesów patologicznych.

Najsłabsze zmiany jelitowe wyrażały się w nastrzykaniu naczyń jelitowych, do którego dołączał się stosunkowo dość szybko obrzęk błony podśluzowej, a często i śluzówki.

Do drugiej grupy należy zaliczyć te zmiany, w których stwierdzić było można, drogą mikroskopową lub makroskopową, mniejsze lub większe wybroczyny lub wylewy krwawe, z jednoczesnym lub nieco późniejszym odczynem ze strony tkanki, pod postacią nacieków zapalnych w błonie śluzowej i podśluzówce, z komórkami typu limfocytów lub komórek plazmatycznych. Do tego dołączało się często łuszczenie się nabłonka śluzówki.

Do trzeciej grupy należy zaliczyć te zmiany w jelitach, przy których, mniej lub więcej wyraźnie, występowały powierzchowne ogniska martwicy lub nawet drobne ubytki. Martwicy ulegała zazwyczaj cała śluzówka aż do tkanki podśluzowej, głębiej martwica nie sięgała.

Wreszcie zaznaczyć trzeba, iż u niektórych królików, które padły później (po 2 — 3 tyg.), stwierdzić można było wygojenie się procesu chorobowego w jelitach (makroskopowo).

Co się tyczy zmian w mózgu, to do pierwszej grupy zaliczyćby należało te przypadki, w których nie można było wykazać żadnych zmian w mózgu; do drugiej te, w których zmiany były nieznaczne i wyrażały się tylko w słabszem barwieniu się ziarnistości *Nissla* lub w występowaniu wodniczek w protoplazmie. Do trzeciej grupy zaliczyćby należało zmiany większe, polegające na układaniu się jąder komórek nerwowych na obwodzie, bardzo znacznem zanikaniu ziarnistości *Nissla* i na objawach neurofagizmu. Wreszcie do grupy czwartej zaliczyć należy bardzo znaczne zmiany w mózgu, w którym, prócz wyżej wspomnianych objawów, występował rozpad komórek nerwowych i zjawienie się komórek o typie plazmatycznym, co bywa charakterystycznem dla zmian mózgowych w pewnych sprawach zakaźnych.

Zmiany komórek nerwowych, występujące zarówno w substancji szarej rdzenia, jak też i kory mózgowej, nie są liczne, a komórki porażone leżą wśród komórek o normalnym kształcie i zabarwieniu.

Jeżeli zestawimy zmiany, które występowały pod wpływem działania żywych bakteryj, toksyn i wyciągów, to nie udaje się ustalić jednak jakiegoś bardziej charakterystycznego działania poszczególnych czynników na jelita lub na tkankę nerwową.

Stosunkowo najsilniej działały na jelita bakterje żywe i wyciągi.

Natomiast toksyny zdają się wywoływać zmiany zwykle niezbyt znaczne w jelitach, i nieliczne, lecz daleko posunięte, porażenia komórek nerwowych.

Barwienie bakteryj.

Eisenberg.

O barwieniu biegunowem bakteryj, jako objawie plazmolizy.

Barwienie biegunowe uważane było dotąd za cechę charakterystyczną grupy bakteryj posocznic krwiotocznych, a ostatnia klasyfikacja tych bakteryj nazywa je „*b. pipolaria*" (*Pribram i Plasaj*). Tymczasem bliższa analiza tego objawu, przeprowadzona przeszło na 250 szczepach różnych gatunków bakteryj, przekonała nas, że jest to właściwość wspólna wszystkim bakterjom zdolnym do plazmolizy, t. j. bakterjom gramoujemnym — a tylko, zależnie od warunków hodowli, stanu biologicznego i warunków barwienia, z mniejszą lub większą łatwością dająca się wykazać. Hodowle na podłożach płynnych lepiej się do tego nadają, niż na podłożach stałych, ale udaje się bardzo ładnie uzyskać zabarwienie biegunowe przez dożyciowe zabarwienie bakteryj z górnej, nieco podeschłej, części agarów skośnych zapomocą 1^0_0-owej zieleni malachitowej wodnej. Jako dowód, że (wbrew twierdzeniu *Epsteina*) bakterje gramoujemne dają zabarwienie biegunowe, mogą posłużyć obrazy barwienia ujemnego bakteryj zapomocą tuszu, kollargolu, błękitu berlińskiego, czerwieni Congo, a zwłaszcza cyanahiny, podanej przez nas w. r. 1912. Zróżniczkowanie bakteryj gramoujemnych, spostrzegane przy tych metodach, jest wynikiem plazmolizy, a może być słusznie uważane za negatyw zabarwienia biegunowego: biegunowe skupienie skurczonego protoplastu jest zabarwione w obrazie dodatnim, jasne w obrazie ujemnym; pusta luka, którą opuścił protoplast, jest bezbarwna w dodatnim, zabarwiona w ujemnym obrazie (wypełniona cząstkami węgla, błękitu lub mieszaniny barwikowej). Doświadczenia z działaniem różnych czynników szkodliwych na bakterje, pokazują, że wraz ze śmiercią komórki bakteryjnej znika jej podatność plazmolityczna i zdolność zróżniczkowania w obrazie ujemnym. Wyniki te wskazują, że o znoszeniu tego objawu, jako cechy różniczkowej, mowy być nie może — że pozostaje chyba tylko stwierdzić, dlaczego pewne gatunki czy grupy bakteryj łatwiej w pewnych warunkach ulegają plazmolizie.

Bujwid. Im bardziej będziemy sięgać do arsenału środków chemicznych, które pozwolą nam odróżniać bakterje, tem bardziej zbliżymy się do prawdy. Jednym z takich środków jest *czerwień choleryczna*, którą udało się mówcy odkryć. W pracy z r. 1916 mówca podzielił bakterje na kilka grup w związku z wytwarzaniem katalazy. Bakterje, zaliczane do grupy *pasteurelloz* i *bakt. dżumy* stoją w jednej grupie, wytwarzają bowiem taką samą ilość katalazy. Wszystkie paciorkowce, od chorobotwórczych, aż do *Bact. acidi lactis*, a więc bakterji pożytecznej, bardzo rozpowszechnionej, tworzą drugą grupę, nie produkującą katalazy.

Szymanowski. Zdawałoby się, że *pasteurella* powinna należeć do bakteryj bardzo wrażliwych, ponieważ daje zmiany biegunowe *in vivo*. Tymczasem próbki

krwi, które stały po kilkanaście lat, zachowały jeszcze zjadliwość. Stąd wnioskujemy, że mamy do czynienia z bardzo wytrzymałemi bakterjami.

Eisenberg. Bakterje gramoujemne różnią się od gramododatnich pewnemi właściwościami osmotycznemi. Czy ta różnica polega na nieprzepuszczalności osłonki, czy na jej sztywności—nie wiemy. Wrażliwość osmotyczna nie jest identyczną z wrażliwością na inne czynniki szkodliwe. Metoda przechowywania we krwi ze względu na brak tlenu jest bardzo korzystna dla utrzymania żywotności bakterji.

Badania nad neosalwarsanem.

Janusz Supniewski.

Zmiany anatomo-patologiczne u królików, zatrutych wysokiemi dawkami arsenobenzolów.

W Państwowym Zakładzie Badania Surowic prowadzone są badania nad toksycznością arsenobenzolów, przeznaczonych do sprzedaży na terenie Rzeczypospolitej Polskiej. Badań nad toksycznością dokonywa się na królikach, zastrzykując im dożylnie na 1 kg. zwierzęcia 0.2 gr. badanego preparatu.

Preparaty bardzo toksyczne zabijają zwierzęta w ciągu 24 godzin, z obrazem anatomo-patologicznym krwotocznego gastero-enterytu. Zwierzęta, zastrzyknięte preparatami mniej toksycznemi, żyją dłuższy przeciąg czasu i zdychają wskutek nekrotycznego zapalenia nerek, przyczem zmiany umiejscowione są głównie w kanalikach krętych. Kanaliki te podlegają najpierw nekrozie koagulacyjnej, a następnie zwapnieniu. U królików, które przeżyły, w ślad za zapaleniem nerek, następuje resorbcja wapna i przerost tkanki łącznej podpierającej.

W kłębkach *Malpighiego* widzimy słabe łuszczenie się nabłonka, a w okresach początkowych krwotoki do otoczki *Baumana*. Z innych organów znajdowano zmiany jeszcze w wątrobie. W paru przypadkach zauważono tłuszczową degeneracją wątroby, a dość często wątrobę zastojnową. W wypadkach tych okazało się, że króliki z wątrobą, zmienioną patologicznie w skutek coccidiozy albo stłuszczoną wskutek ciąży, są bardziej wrażliwe na działanie preparatów. Znajdowano jeszcze wybroczyny krwawe do pęcherzyków płucnych. W systemie nerwowym centralnym zmian większych nie zauważono.

Emilja Helmanowa.

O wpływie arsenobenzolu na tężenie krwi.

Stwierdziliśmy bardzo wyraźny wpływ neosalvarsanu na tężenie krwi. Doświadczenie, zrobione *in vivo* na króliku, któremu wstrzyknięto roztwór 10%-go neosalvarsanu, w ilości 2 ccm. na kilo wagi, wskazuje, że krew jego nie tężeje nawet po upływie 3 dni. Posługując się metodą *Bordeta* i *Delange'a*, zmienioną przez *Hirszfelda* i *Klingera*, badaliśmy wpływ neosalvarsanu na trzy składniki, odgrywające podstawową rolą w tężeniu krwi,

mianowicie na: cytozym, serozym i trombinę. Neosalvarsan, zmieszany z cytozymem, jako też z serozymem, w przeciągu 15 minut opóźnia znacznie tężenie krwi; 0,1 ccm. salvarsanu w rozcieńczeniu 0,075%, zmieszane podczas 15 minut z 0,1 ccm. cytozymu, nie wywołuje tężenia nawet po upływie 18 godzin. Ta sama ilość neosalvarsanu, zmieszana z trombiną, opóźnia tężenie krwi w sposób nieznaczny, co pozwala przypuszczać, że neosalvarsan niszczy cytozym i serozym, albo paraliżuje wytwarzania się trombiny. Badaliśmy też rolę składników neosalvarsanu. *Anilina, nitrophenol, oxyphenol, arsenjan sodu i rongalit* nie wywierają żadnego wpływu na tężenie krwi. Kwasy *nitroarsanilinowe i nitroxyphenoarsenowe* uniemożliwiają również tężenie. Kwas *arsenilinowy* nie wywiera żadnego wpływu, kwas *nitroarsanilinowy* przeciwnie, przeszkadza tężeniu, co dowodzi, że grupa *nitro* jest przyczyną tego zjawiska. Różnice w sposobie działania kwasu *nitroxyphenyloarsenowego i oxyphenylarsenianu sodu* potwierdzają tę hypotezę. *Neosalvarsan* bardziej hamuje krzepnięcie krwi, niż inne pochodne *arsenobenzolu*, trzeba więc przypuścić, że i inne czynniki mogą tu odgrywać rolę.

O zjawisku d'Herelle'a.

B. Feiginówna i J. Supniewski.

Przyczynek do badań nad istotą zjawiska Twort-d'Herelle'a

W sprawie istoty czynnika litycznego (bakterjofagów) istnieją dwie teorje:

1) teorja żywego zarazka (*d'Herelle*).

2) teorja zaczynu, wytwarzanego przez same bakterje i tkanki (*Bordet i Ciuca i t. d.*).

Praca nasza miała na celu rozstrzygnięcie zagadnienia, czy zjawisko *d'Herelle'a* jest spowodowane przez żywy, samodzielny zarazek. W tym celu zrobiliśmy dwie próby: próbę na katalazę i próbę na redukazę. Tkanki i komórki świata roślinnego i zwierzęcego posiadają pewne zaczyny, między któremi katalaza, a szczególnie redukaza, spotykają się prawie zawsze. Do próby na katalazę używaliśmy 3% wody utlenionej, a do próby na redukazę 1‰ wodnego rozczynu błękitu metylenowego. Czynnika litycznego używaliśmy przesączonego, w miesiąc po jego przygotowaniu, a to dlatego, żeby mieć zupełną pewność, że niema w nim szczepów odpornych. Jako kontrole służyły hodowle bakteryjne w buljonie, żywa i zabita. Obie te próby dały rezultat ujemny: tylko w probówkach z żywą zawiesiną woda utleniona rozszczepiała się na tlen i wodę i błękit metylenowy się odbarwiał. Probówki z bakterjofagami i zabitemi mikrobami tych reakcyj nie doznawały.

Wiemy, że stężenie jonów wodorowych się zmienia w zależności od wzrostu mikrobów: do probówki z buljonem o określonem Ph, dodaliśmy pewną ilość czynnika litycznego; postawiliśmy probówkę w cieplarce; po dłuższym czasie — stężenie jonów wodorowych pozostało bez zmiany.

Następnie czynnik lityczny (bakterjofagi) poddawaliśmy wyparowaniu i ekstrahowaniu w przeciągu dwuch godzin w aparacie Soxtleta: po tem dwugodzinnem ekstrahowaniu okazało się, że pozostałość, rozpuszczona w buljonie, nie zatraciła swych własności litycznych i, dodana do świeżej buljonowej hodowli, rozpuszczała ją z jednakową siłą.

Brak zmian w Ph, brak katalazy i redukazy, wyniki ekstrahowania w eterze, a wreszcie zdolność rozpuszczania się czynnnika litycznego w acetonie i alkoholu (*Kaheshima*) pozwalają nam twierdzić, że zjawisko *d'Herell'a* nie jest wywołane przez żywy samodzielny zarazek.

Ażeby stwierdzić, czy jest to zaczyn, a ewentualnie, jakie są jego własności, przesączyliśmy starą buljonową hodowlę prątków *Shiga*. Przesącz, dodany do świeżej hodowli, rozpuścił takową początkowo niezupełnie, ale po kilku pasażach otrzymaliśmy zupełne prześwietlenie buljonu. Czynnik lityczny, otrzymany ze starych hodowli, w niczem się nie różni od bakterjofagów, otrzymanych przez *d' Herelle'a* z kału ozdrowieńców, lub z wysiąku leukocytowego *Bordet i Ciuca*. Przeto twierdzimy, że czynnik ten jest wytwarzany przez same bakterje, że bakterje rozpuszczając się, wytwarzają pewną ilość tego czynnika, i tem tylko możemy wytłomaczyć brak lizy zabitych bakteryj, bez względu na to, w jaki sposób zostały zabite. Tem też tłomaczyć możemy, że zawiesina żywych bakteryj w soli fizjologicznej niezupełnie się rozpuszcza, gdyż, jak wiadomo, część bakteryj w soli fizjologicznej ginie.

B. Feiginówna.

O zmianach biochemicznych szczepu Shiga pod wpływem czynnika litycznego Twort-d'Herell'a.

Do pracy używałam szczepu *Shiga*, sprawdzonego pod względem biochemicznym i serologicznym.

Jako pożywka stosowany był buljon o Ph 8·3 — 8·4. Zawiesina bakteryjna zawierała 300 — 500 miljonów bakteryj w 1 cm^3. Do 10 cm^3 zawiesiny tych prątków w buljonie, dodawałam jedną lub dwie krople czynnika litycznego (bakterjofagów).

Po 6 — 8 godzinach w temp. 37° następowało zupełne prześwietlenie buljonu; po kilku dniach — zmętnienie. Szczepy, które wyrastają w takich warunkach, są odporne na czynniki lityczne. Otrzymałam kilka takich odpornych szczepów, różniących się od normalnego szczepu *Shiga* właściwościami serologicznemi i działaniem na cukry. Jeden z tych szczepów posiadał następujące cechy.

Była to hodowla bardzo śluzowata, koloru białawego, nieprzezroczysta. Czynnik lityczny nie rozpuszczał jej. Pod względem morfologicznym był to prątek nieruchomy, gramoujemny; zakwaszał laktozę, dekstrozę, mannit, maltozę, dulcit, lewulozę i arabinozę; nie zakwaszał saccharozy, raffinozy i inuliny. Wytwarzał gazy. Czerwienił serwatkę lakmusową i mleko z lakmusem. Mleko ścinał po 48 godzinach. Posiany w 1%-ej wodzie peptonowej, dawał odczyn indolowy. Żelatyny nie peptonizował. Nie rósł na aga-

rze, na którym poprzednio rósł prątek *Shiga*, na agarze t. zw. „vaccinè“ (*Coli* natomiast doskonale się rozwija na agarze, na którym przedtem rośnie prątek *Shiga*.). Pod względem serologicznym żadnym zmianom nie uległ, gdyż zlepiał się z surowicą wielowartościową *anti-Shiga* do wysokości miana.

Próba *Castellaniego* dała następujące wyniki: surowica wielowartościowa *anti-Shiga*, po nasyceniu szczepem normalnym *Shiga*, danego odpornego szczepu nie zlepiała, nasycona natomiast szczepem odpornym — zlepiała nawet normalny szczep *Shiga*. Tym odpornym szczepem, zachowującym się pod względem serologicznym, jak normalny *Shiga*, z którego powstał, pod względem biochemicznym jednak zmienionym zupełnie — uodporniłam królika, zastrzykując mu kilkakrotnie, w odstępach 4 — 5 dni, do żyły usznej, zabitą hodowlę danego szczepu.

Surowica królika, uodpornionego tym odpornym szczepem, ma następujące własności:

1) jest antylityczną, to znaczy zobojętnia czynnik lityczny.

2) zlepia normalny szczep *Shiga* do $^1/_{25600}$ i szczep odporny do $^1/_{5320}$, przytem aglutynacja ze szczepem *Shiga* ma charakter grudkowaty, a ze szczepem odpornym — obłoczkowaty. Próba *Castellaniego* dała następujące wyniki: surowica, nasycona szczepem odpornym, szczepu *Shiga* nie zlepia, nasycona zaś szczepem normalnym — zlepia jeszcze szczep odporny.

3) posiada substancje, wiążące dopełniacza: próba *Bordet-Gengou* z antygenami, szczep normalny i szczep odporny, daje zupełne odchylenie dopełniacza w obydwuch wypadkach (+ + +).

4) posiada precypitiny dla szczepu normalnego i szczepu odpornego.

Szczep ten jest mniej zjadliwym dla królika, niż normalny, przytem żyje dłużej; przechowany w buljonie po 5 — 6 miesiącach zachowuje zdolność do dalszego rozwoju.

Serologiczne własności naszego szczepu odpornego i własności surowicy królika, uodpornionego danym szczepem, wykazują dobitnie, że mamy do czynienia nie z przypadkowem zanieczyszczeniem, lecz, że jest to szczep typu *Shiga*, który pod wpływem czynnika uległ bardzo znacznym zmianom biochemicznym. Jest to rzecz interesująca ze względu na uderzającą wprost zmianę bakteryj pod wpływem czynnika, usiłującego je zniszczyć. Stanowi to przystosowanie się do nowych warunków, osiągnięcie odporności kosztem zmiany własności biologicznych. W każdym razie, zmiana prątków *Shiga* podaje w wątpliwość całą naszą niezachwianą wiarę w stałość cech biochemicznych (jedna z podstaw różnicowania szczepów).

Zjawisko wyżej opisane ma niemniejsze znaczenie w badaniach djagnostycznych, zwłaszcza gdy chodzi o nosicielstwo. Dość często (w każdym razie, w naszej praktyce djagnostycznej zdarzało się to niejednokrotnie) z kałów uzdrowieńców wyhodowywano bakterje, które na cukrach zachowywały się nietypowo, a aglutynację dawały dość wysoką z różnemi surowicami wielowartościowemi. Prace nad jednym takim szczepem, zakwaszającym cukry, t. j. zachowującym się biochemicznie, jak *Coli*, i zlepiającym się z surowicą wielowartościową *anti-Shiga*, są w toku.

Szczepionki zapobiegawcze przeciw wściekliźnie.

Z. Karłowski i J. Dzierzkowski.
Szczepionka karbolizowana przeciwko wściekliźnie.

Od dłuższego już czasu starano się (*Fermi, Vansteenberghe, Heller* i *Bertarelli, Mazzei, Rodet i Galavielle, Harris, Cummings* i inni) wytworzyć szczepionkę przeciwko wściekliznie, którą możnaby przesyłać, t. j. któraby była trwałą, a jednak skuteczną. Próby te nie zyskały jednak szerszego zastosowania praktycznego.

Dopiero w roku 1910 *D. Semple* otrzymał szczepionkę karbolizowaną, która zachowywała swe własności w ciągu czterech miesięcy. Stosował ją w latach 1912 — 1916 w 22519 przypadkach, w Zakładach w Birmie i Kazauli, ze śmiertelnością ogólną szczepionych 0,68%, a uwzględniając tylko europejczyków, ze śmiertelnością 0,19%. *Semple* stwierdził, że jakkolwiek w ciepłocie pokojowej zarazek wścieklizny jest mało wrażliwy na działanie karbolu, ginie jednak w 1%-owym rozczynie karbolu już po 24 godzinach, w temperaturze 37°. Szczepionka *Semple'a* przygotowywana więc jest z zabitego zarazka, co stanowi najwybitniejszą jej różnicę w stosunku do szczepionek ogólnie stosowanych. Stwierdziliśmy zapomocą posiewów jej jałowość, a zapomocą szczepień podoponowych nieszkodliwość szczepionki, o ile mleczanka była roztarta bardzo dokładnie. Prócz łatwości stosowania szczepionki w miejscu zamieszkania pokąsanego, albo w najbliższym szpitalu, zaletami jej są: jałowość, łatwość dawkowania, a może i możność uniknięcia porażeń poszczepionkowych, o ile one rzeczywiście zależą od działania żywego zarazka szczepionki pasteurowskiej.

Mimo jednak tylu zalet nowej szczepionki, nie jesteśmy jeszcze przekonani o najważniejszej jej właściwości — o jej skuteczności. Dane Warszawskiego Instytutu Pasteurowskiego z ostatnich lat piętnastu, Instytutu Pasteura, Instytutu w Ljonie, wykazują, że przy stosowaniu dawnej szczepionki można otrzymać lepsze wyniki.

Celem rozstrzygnięcia tego pytania, zwrócić się należy do danych doświadczalnych.

Rozpoczniemy też badania nad występowaniem własności bakterjobójczych i odchyleniem dopełniacza w surowicy krwi, po uodpornieniu szczepionką *Semple'a* i zwykłą. Obecnie stosujemy ludziom szczepionkę *Semple'a* wyłącznie w przypadkach, gdy osoba szczepiona, z powodu choroby obłożnej, nie może przychodzić na szczepienia do Zakładu. Przypadków takich mamy jednak niewiele.

Możnaby jednak stosować szczepionkę *Semple'a* u koni, bydła i trzody w warunkach ścisłej obserwacji klinicznej.

TREŚĆ ZESZYTU. — SOMMAIRE.

Ludwik Hirszfeld i Julja Seydel: O własnościach zlepnych szczepów durowych, rzekomodurowych i szczepów odmieńca. — Sur les propriétés agglutinantes des cultures des bacilles typhiques, paratyphiques et Proteus, str. 139.

Dr. H. Sparrow: Badania doświadczalne nad durem plamistym. — Expèriences sur le typhus exanthématique, str. 168.

Dr. Z. Szymanowski i L. Szereszewski: Przyczynek do zmienności bakteryj czerwonkowych. — Sur la variabilité des microbes dysentériques, str. 201.

Dr. Włodzimierz Filiński: W sprawie ziarnistych i odłamkowych postaci laseczników gruźliczych i w sprawie sposobu ich barwienia. — Sur les formes granuleuses et fragmentaires et sur les méthodes de colorations des bacilles de la tuberculose, str. 224.

Dr. Marceli Landsberg: Opadanie krwinek a Crise Hémoclasique. — Sédimentation des glubules rouges et crise hémoclasique, str. 231.

Dr. Med. Ryszard Biehler: Próby szczepienia trądu na kozach. — Essais d'inoculation de la lépre aux chèvres, str. 235.

Dr. Emilja Helmanowa: Wpływ pochodnych arsenobenzolu na krzepliwość krwi. — Sur l'influence anticoagulante du Arsenobenzol, str. 239.

L. Kopciowska: O odczynach Widala i Weila-Felixa w durze powrotnym — Sur la rèaction de Widal et de Weil-Felix dans la fièvre recurrente, str. 248.

Dr. Stanisław Sierakowski: O uodpornianiu drogą pokarmową. — Sur la vaccination par la voie digestive, str. 250.

Zjazd naukowy pracowników Państwowego Zakładu Epidemjologicznego i Państwowego Zakładu Badania Surowic w Warszawie, dnia 17 czerwca 1922 roku. — Conférence scientifique des collaborateurs de l'Institut, str. 254.

Wykłady dla lekarzy. Proszeni jesteśmy o zaznaczenie, że w czasie od dn. 2 do 13 listopada r. b. odbędą się wykłady dla lekarzy w Szpitalu Starozakonnych na Czystem w Warszawie z demonstracjami chorych. Zapisy przyjmuje Sekretarz Komitetu Organizacyjnego Dr. *Stanisław Klejn*, Warszawa, Nowogrodzka 46, tel. 190-88 i 507-09.

Za redakcję: Dr. Henryk Raabe. Zeszyt wykończono 20. X. 1922.

Varsovie.
Institut Epidemiologique de l'État
Chocimska 2b.

(Distribué le 20.X 1922).

Państwowy Zakład Pasteurowski

Oddział Państwowego Zakładu Epidemjologicznego

Warszawa, Chocimska 2b (dawn. Langnerowska). Tel. 24-43.

Wejście dla chorych: Parkowa 36.

Stosuje kurację leczniczo-ochronną przeciw wodowstrętowi.

Chorzy leczą się ambulatoryjnie, jak również mogą korzystać z internatu przy zakładzie.

Koszta internatu (Koszykowa № 23) wynoszą 800 Mk. dziennie.

Koszta szczepienia 800 Mk. dziennie.

Opłaty ściągane są bezpośrednio od leczonych lub też po ukończeniu kuracji za pośrednictwem odnośnych gmin.

Zakład otwarty od godz. 8 do 2, w święta od 8 do 11.

Szczepienia pokąsanych codziennie od 8 do 11.

Barwniki i odczynniki do badań mikroskopowych

SUROWICE i SZCZEPIONKI

POLECA P. P. LEKARZOM

APTEKA K. WENDY

SPÓŁKA z OGRAN. ODPOWIEDZIALN.

WARSZAWA, KRAKOWSKIE-PRZEDMIEŚCIE 45, TEL. 127-89.

Państwowy Zakład Epidemjologiczny

Warszawa, ul. Chocimska 2b (dawniej Langnerowska) tel. 108-42.

Adres telegraficzny „CENTREPID-WARSZAWA".

Numer Konta pocztowego w P. K. O. 30062.

Wysyła na każde żądanie za gotówkę lub za pobraniem pocztowem SUROWICE, SZCZEPIONKI i POŻYWKI według następującego wykazu:

		Cena Mk.
1	Surowica przeciwbłonicza à 1000 . . . . jedn. fl.	1.000
2	„ „ à 2000 . . . . . „ „	1.800
3	„ „ czerwonkowa . . . . . „	1.600
4	„ „ tężcowa . . . . . „	1 600
5	„ „ paciorkowcowa . . . . . „	1.600
6	„ „ „ dla przypadk. szkarlatyny „	1 600
7	„ „ meningokok. A., B., A+B. . „	1.600
8	„ normalna końska . . . . . „	500
9	„ aglutyn. mętwik cholery azjatyckiej . . „	500
10	„ „ laseczkę paraduru A i B . . . „	500
11	„ „ duru brzusznego . . . „	500
12	„ „ czerwonki typów Shigi, Flexnera, Y „	500
13	„ „ meningokoki A. B. . . . . „	500
14	„ hemolityczna . . . . . „	600
1	Szczepionka przeciwcholeryczna we flak. litr	12.000
2	„ „ durowa A., B., C. „ „	12.000
3	„ Tetra (przeciwcholer. i przeciwdur.) „ „	12.000
4	„ przeciwczerwonkowa wieloważna uczul. (Shigi i Flexnera) . . „ „	12.000
5	„ Sexta (przeciwcholer., przeciwdur. i przeciwczerw.) . . . . . „ „	12.000
6	„ przeciwcholer. w amp. 1 ccm. amp.	150
7	„ Tetra „ „ „ „	150
8	„ Sexta „ „ „ „	150
9	„ streptokokowa „ „ „	150
10	„ stafilokokowa „ „ „	150
11	„ gonokokowa „ „ „	200
1	Pożywki: agar zwykły we fl. à 100 ccm. litr	1.600
2	„ „ alkaliczny „ „ „	1 600
3	„ Dieudoné „ „ „	2.000
4	„ Endo lub Drygalski „ „ „	2.000
5	„ buljon zwykły „ „ „	1.200
6	„ agar zwykły oraz alkaliczny w prób.	40
7	„ „ surowiczy . . . . . „	65
8	„ Loeflera	65
9	10% woda peptonowa we fl. à 100 ccm. .	2.200
10	Antigen (wyciąg spirytus. z serca) 1 ccm.	400
11	Tyfus mysi, mały flak.	400
12	Krowianka ospowa na . . . . 1 szczepienie	400
13	„ „ „ . . . . 5 szczepień	600
14	„ „ „ . . . . 10 „	800
15	„ „ „ . . . . 50 „	3.000
16	„ „ „ . . . . 100 „	5.000
17	„ „ „ . . . . 200 „	8.000
18	Szczepionki ochronne przeciwcholer., przeciwdurowe i przeciwczerw. w past. wedł. prof. Besredki porcja	500

Surowice, szczepionki i krowianka podlegają kontroli Państwowej.

Druk K. Kowalewskiego, Warszawa, Piękna 15.